

Rivista di Patologia Vegetale

DIRETTA DAL PROF. LUIGI MONTEMARTINI

DIRETTORE DEL R. ORTO BOTANICO,

GIARDINO COLONIALE E OSSERVATORIO FITOPATOLOGICO DI PALERMO

LAVORI ORIGINALI

E. CORNELI

AZIONE A DISTANZA DEI METALLI SOPRA ALCUNE SPECIE FUNGINE

A seguito delle esperienze del Rivera ⁽¹⁾ che or sono tre anni ebbe a mettere in evidenza l'azione biologica a distanza di alcuni metalli, primo tra essi il piombo, sul ritmo di crescita di tessuti normali e patologici di piante superiori, e anche di qualche comune muffa (*Penicillium crustaceum*) ho iniziato prove dirette a meglio precisare la eventuale suscettibilità di funghi, saprofiti e parassiti, variando notevolmente il metodo adottato dal Rivera. Già

⁽¹⁾ RIVERA V. — *Radiazione ed accrescimento nei vegetali.* - (Ren. R. Accad. Naz. Lincei, vol. XI, sez. 6^a, fasc. 7, 1930.

Secondo contributo alla conoscenza della influenza dell'energia raggiante ambientale sull'accrescimento di piante terrestri e di neoplasmii vegetali. - Rivista di Biologia, vol. XIII, fasc. 1-3, 1931.

Azione a distanza di metalli (Prove con Penicillium crustaceum). - Atti della Pont. Accad. delle Sc. Nuovi Lincei, anno LXXXVI, ses. 4 del 19 marzo 1933.

Ancora sull'azione biologica dei metalli a distanza. - Atti della Pont. Accad. delle Sc. Nuovi Lincei, anno LXXXVI, ses. 5^a del 23 aprile 1933.

Nadson e Stern ⁽¹⁾ due anni dopo il Rivera, avevano notato una azione biologica, talora ritardatrice e talora inibente, di alcuni metalli, sulla moltiplicazione di batteri e saccaromiceti: i metalli erano in parte i medesimi che nelle esperienze del Rivera avevano dato effetti biologici tanto spiccati.

In queste mie prime prove ho voluto constatare l'eventuale azione biologica, a distanza, di piombo, rame, argento su *Penicillium glaucum* facendo avvenire la germinazione delle spore e l'ulteriore sviluppo micelico fino alla fruttificazione a distanze successivamente varianti dai dischi metallici: a tale scopo ho usato delle camerette di germinazione costituite da vaschette di vetro concave di diametro di cm. 4 e profondità di cm. 1,7 nelle cavità delle quali disponevo, volta a volta, dei dischi di metallo di dimensioni varianti. Il metallo a seconda del diametro del disco rimaneva più o meno distante da un vetrino portante al centro, a goccia pendente, una sospensione di spore di *Penicillium glaucum* in acqua o in soluzione di Raulin. Tale allevamento poggiava sul bordo superiore della vaschetta e il vetrino veniva accuratamente lutato con paraffina onde impedire la rapida evaporazione della soluzione; la serie delle prove era talora tenuta in termostato a circa 27°, talora lasciata a temperatura ambiente di 12-16°.

In precedenza ogni disco dei vari metalli era accuratamente pulito e limato.

A) L'osservazione microscopica eseguita subito dopo iniziata la germinazione nei controlli, costituiti anch'essi

(¹) NADSON e STERN — « Comptes rendus de l'Accad. des Sciences » 2 maggio e 20 giugno 1932.

dalle medesime vaschette senza inclusione del metallo, mi ha dato i risultati che schematicamente qui sotto riporto :

1) Controlli : germinazione regolare e quasi totale delle spore. La germinazione come pure lo sviluppo dei tubi promicelici è uguale tanto nelle spore isolate e sospese nel liquido quanto nelle spore riunite in grumi o ammassi, che non mi era stato possibile dividere al momento in cui eseguivo la sospensione.

2) Vaschette con dischi di rame e argento posti a distanze successive di mm. 1-2-3 $\frac{1}{2}$ dalla sospensione : germinazione delle spore e sviluppo dei tubi promicelici uguali al controllo, tanto nelle spore isolate quanto nei grumi.

3) Vaschette con dischi di piombo : l'azione del metallo si manifesta molto evidente tanto da *impedire* la germinazione delle spore isolate e sospese alla superficie del velo liquido formato dalla soluzione nutritiva. La germinazione è inibita tanto nei preparati ove il piombo è a distanza di mm. 1, quanto in quelli alla distanza superiore di mm. 2 e 3 $\frac{1}{2}$. Si nota invece una *germinazione abbondante* e talora *solo leggermente ritardata* delle spore *riunite in grumi*. In questi casi, e specialmente quando gli ammassi sono costituiti da spore numerose, l'azione del piombo perde di efficacia, talora si annulla e si assiste pertanto alla germinazione regolare e allo sviluppo del tubo promicelico della maggior parte delle spore, siano esse disposte al centro o alla periferia del grumo stesso.

B) L'esame degli stessi preparati a *circa 4 giorni* di distanza dalla prima osservazione, tenuti a temperatura ambiente, mi ha dato i seguenti risultati :

1) Controlli : sviluppo micelico a feltro uniforme con abbondante produzione di spore.

2) Vaschette con dischi di rame e argento : sviluppo micelico e fruttificazione uguale ai controlli, tanto nei pre-

parati ove il metallo é alla distanza di mm. 1, come in quelli a distanza maggiore.

3) Vaschette con dischi di piombo: le spore isolate che nella precedente osservazione non avevano germinato, ora hanno germinato soltanto in *lievi percentuali* e mostrano un tubo promicelico breve e non ramificato. Le percentuali di germinazione sono più forti nei preparati ove il piombo è a distanza di mm. $3\frac{1}{2}$ e lievissime in quelli ove il metallo è a distanza di mm. 1.

C) In altre ulteriori osservazioni dei medesimi preparati, fatte in proseguo di tempo, ho potuto stabilire che lo sviluppo del tubo promicelico delle spore in germinazione si arresta ben presto cosicchè, in ultima analisi, il piombo agirebbe inibendo la germinazione di una *parte* delle spore isolate, ritardando notevolmente la germinazione dell'altra parte e in seguito ostacolandone e arrestandone lo sviluppo micelico. Si ha pertanto una *inibizione* alla germinazione o allo sviluppo, senza però che si determini la morte dei germi stessi: al contrario, qualora si riportino in ambiente normale, in assenza del metallo, si sviluppano e talora sembra, anzi, con un certo anticipo rispetto al controllo.

Le spore aggruppate hanno, al contrario, dato luogo a formazione di colonie miceliche sparse, alcune delle quali, senza traccia di fruttificazione, altre invece fruttificate ma meno abbondantemente dei controlli. L'azione del piombo su questi ammassi è tanto meno evidente, quanto più essi risultano costituiti da spore numerose e più strettamente riunite.

Per meglio sceverare l'azione esplicita dal piombo sulle spore isolate ho tentato di portare nei preparati possibilmente soltanto tali spore. Pertanto dopo aver filtrato la sospensione attraverso uno strato di cotone idrofilo

che, meglio di altri materiali, trattiene la maggior parte dei grumi, ho ripetuto numerose volte le prove già descritte ottenendo sempre dei risultati molto evidenti e cioè : mancata *germinazione* in una notevole percentuale di spore specie con piombo vicinissimo ; ritardo notevolissimo nella germinazione delle altre spore con arresto di sviluppo dei tubi promicelici prima che questi abbiano potuto ramificare e fruttificare.

Perchè questo fenomeno di depressione della germinazione e dell'accrescimento del micelio si verifichi occorre però la *chiusura ermetica* delle camerette, entro le quali si fa avvenire la germinazione, in modo da impedire qualsiasi rapporto di continuo con l'ambiente esterno. Tale chiusura si può ottenere lutando i bordi delle vaschette con paraffina.

Operando con vaschette o scatole Petri non chiuse ermeticamente le differenze sono minime o nulle, anche quando il disco di piombo sia posto a distanza di uno o pochi millimetri dalla coltura.

Infatti nella serie di esperimenti, in scatole Petri, non previamente chiuse ottenni sempre, salvo piccole variazioni, delle percentuali di germinazione e degli sviluppi micelici uguali ai controlli, anche nei casi ove il piombo era posto a distanza minima : chiudendo l'intercapedine delle scatole Petri con paraffina, o comunque isolando l'ambiente ove doveva avvenire il fenomeno, ottenni i risultati definitivi e costanti che misero in evidenza l'importanza assoluta di questo fattore.

In prove successive ho portato la distanza del piombo dalle sospensioni di *Penicillium glaucum*, a cm. 0,5 cm. 1 e 1,5 ottenendo sempre una *netta azione ritardatrice* e talora *inibente* sulla germinazione e sugli ulteriori sviluppi delle spore isolate.

Il rame e l'argento mi hanno dato quasi costantemente dei risultati uguali ai controlli tanto che nelle successive prove ho scartato questi due metalli.

Con dischi di piombo del diametro di cm. 7, posti in camerette chiuse, alla distanza di cm. 5 dalla sospensione di spore di *Penicillium*, ho ottenuto una germinazione notevolmente ritardata, tanto che, dopo 18 ore dall'impianto della prova, nessuna spora mostrava accenni di germinazione, mentre le spore del controllo avevano germinato in elevatissime percentuali. A tale proposito riporto alcuni risultati di germinazione di spore di *Penicillium glaucum*, su brodo agarizzato, avvenute in vaschette di dimensioni diverse, ove le lastre di piombo, di diametri vari, erano poste a distanze successive dalle colture.

Dalla tabella riportata si nota come la superficie del metallo e la distanza dalla coltura abbiano una notevole influenza nel determinare i fenomeni descritti, tanto da aversi dei casi di massima vicinanza e più vasta superficie del metallo in cui l'effetto apparisce evidentissimo, in contrapposto a casi di massima distanza e minore estensione della superficie metallica nei quali l'effetto si può considerare nullo. Senonchè da queste stesse prove ma tanto più da altre successive ho potuto trarre la convinzione che la distanza del metallo dalla coltura ha un'importanza relativa nel determinare il fenomeno, dovendo mettersi l'intensità di questo in relazione, più che altro, con la *superficie* del metallo e con il *volume* delle camerette chiuse entro le quali si fa avvenire la germinazione.

A tale proposito ho posto delle lastre di piombo alla distanza di pochi millimetri da spore di *Penicillium glaucum* disseminate su brodo agarizzato, ponendo il tutto entro capsule Petri molto più vaste che chiudevo ermeticamente colando nell'intercapedine di esse della paraffina fusa.

Azione a distanza del piombo su spore di *Penicillium glaucum*.

Distanza del piombo della coltura	Diametro delle lastre di piombo	Osservazione dei preparati	
		Dopo 18 ore dalla semina	dopo 4 giorni
Controllo		Germinazione costantemente uniforme e normale.	Sviluppo micelico a feltro uniforme con abbondante fruttificazione.
cm 1	cm 1,5	Germinazione totale ma molto ritardata.	Lievemente meno fruttificato del controllo.
» 1	» 5	Nessuna germinazione.	Colonie sparse e fruttificate.
» 3	» 1,5	Germinazione e sviluppo uguali al controllo.	Uguale al controllo.
» 3	» 3	Germinazione totale ma ritardata.	Uguale al controllo.
» 3	» 4,5	Germinazione in piccole percentuali; sviluppo del promicelio ritardatissimo.	Sviluppo a colonie fruttificate.
» 3	» 6	Nessuna germinazione.	Sviluppo micelico a colonie sparse, fruttificate.
» 5	» 4,5	Germinazione buona, ma ritardata.	Uguale al controllo.
» 5	» 7	Nessuna germinazione.	Sviluppo micelico a colonie molto sparse, fruttificate.
» 8	» 4	Germinazione e sviluppo uguali al controllo.	Uguale al controllo.
» 8	» 7	Germinazione lievemente ritardata sul controllo.	Uguale al controllo.

Orbene, in questi casi, ottenevo delle germinazioni e degli sviluppi micelici uguali ai controlli, benchè il metallo fosse vicinissimo ; solo usando, gradualmente, *recipienti più piccoli* l'azione delle medesime lastre di piombo, poste ad uguale distanza, si manifestava. La radiazione secondaria del piombo o la ionizzazione dell'aria, se tali ne sono le cause, ipoteticamente già indicate da Rivera, avrebbero pertanto un'azione constatabile soprattutto se non sono disperse ma sibbene trattenute e fatte accumulare in un ambiente di dimensioni convenienti. Ricoprendo con uno strato uniforme di paraffina i dischi di piombo, il metallo non mostra avere più nessuna azione, tanto che si ottengono germinazioni, successivi sviluppi micelici e fruttificazioni nelle capsule con piombo paraffinato uguali ai controlli, anche a distanze minime.

Sperimentando con spore di *Ascochyta Pisi* ho poi potuto fare il rilievo che uno strato anche tenuissimo di acqua o di soluzione nutritiva può diminuire o annullare l'azione del piombo. Nella goccia pendente le spore di *Ascochyta Pisi* si disponevano parte alla superficie del velo liquido parte più profondamente. Orbene le prime mostravano un netto ritardo nella germinazione, mentre le seconde si comportavano come le spore dei controlli le quali, indifferentemente, possedevano la stessa capacità germinativa e di sviluppo fossero esse disposte alla superficie ovvero immerse nel liquido.

A tale proposito è interessante il rilievo che occorre, perchè l'azione del piombo si espliciti normalmente, che si operi con lamine perfettamente pulite, ciò che si ottiene pulendo le lamine stesse con carta vetrata o lima.

Spore di *Tricothecium roseum* e *Ascochyta Pisi* con le quali ho anche sperimentato, mostrano di essere sensibili all'azione a distanza del piombo in grado minore che non le spore di *Penicillium glaucum*.

Con questi germi ho ottenuto soltanto una notevole azione ritardatrice sulle germinazioni: in seguito lo sviluppo micelico ed il comportamento generale è uguale a quello dei controlli. Naturalmente anche in questi casi occorre usare delle vaschette completamente chiuse.

Uredospore di *Uromyces Betae* non sono affatto sensibili all'azione a distanza del piombo e non danno pertanto luogo neanche a ritardi nella germinazione.

Si osserva perciò una notevole diversità di comportamento delle spore delle varie specie fungine sottoposte all'azione a distanza del piombo. Da fenomeni di inibizione alla germinazione e di depressione nello sviluppo micelico si passa a semplici fenomeni di ritardo nella germinazione, sino alla mancata azione del piombo.

Si tratta evidentemente di diversa sensibilità di funghi patogeni e saprofiti all'azione a distanza del piombo, a seconda della specie cui appartiene il germe in esperimento.

Queste prove dimostrano la indiscutibile azione a distanza del piombo anche sulla germinazione di alcune spore fungine, per cui l'azione a distanza dei metalli, nei fenomeni vitali, apparisce sempre più un fatto generale. Senonchè qui si aggiunge che gli effetti biologici, sulle spore delle specie su cui si è sperimentato, appaiono solo quando il fenomeno sia fatto avvenire in cameretta o scatola ermeticamente chiusa.

La spiegazione di questo fatto può essere trovata fin nei primi enunciati emessi dal Rivera. La sperimentazione di questo A., condotta in prevalenza su organismi superiori rinchiusi in scatole delle dimensioni di alcuni decimetri di lato, ha posto in evidenza fatti biologici prevalentemente eccitativi: nella sperimentazione che qui si riporta i fatti depressivi, che si rilevano, sono forse parimenti da attribuire alla radiazione secondaria sia che essa

agisca in sè e per sè sulla cellula in divisione sia che i fatti eccitativi o depressivi vogliano essere attribuiti alla ionizzazione dell'aria, determinata direttamente o indirettamente dalla radiazione stessa. Orbene può pensarsi che la chiusura perfetta delle scatole, che nelle mie prove esalta di tanto i fattori biologici depressivi, determini un accumulo sempre maggiore di radiazione secondaria oppure una sempre più completa ionizzazione dell'aria rinchiusa da cui gli effetti biologici descritti.

E. CORNELI

RIPRODUZIONE IN LABORATORIO DI INFEZIONI DA "UROCYSTIS TRITICI,, KOERN. SU FRUMENTI

In seguito allo sviluppo preoccupante di *Urocystis* ⁽¹⁾, su alcune varietà di grano, manifestatosi nel 1933, in varie località della provincia di Perugia e specialmente nel territorio circostante al lago Trasimeno, abbiamo, anche in quest'anno, sorvegliato la zona e ci siamo informati con cura circa la possibile ricomparsa del male, ma, salvo qualche raro e sporadico trovamento, del resto normale nelle zone dell'Italia centrale, non abbiamo avuto sentore del ripetersi dell'infezione che tanto ebbe a preoccupare gli agricoltori nell'annata scorsa.

Prendiamo occasione per precisare che effettivamente si tratta di *Urocystis Tritici* Koernicke (ved. Biraghi ⁽²⁾) e non di *Urocystis occulta*; tale accertamento è fondato oltre che sulle differenze morfologiche fra le clamidospore

(1) RIVERA V. e CORNELI E. — *Progressivo estendersi di epidemie da Urocystis su frumento*. - Riv. di Pat. Veg., anno XXIII, N. 3-4, 1933.

(2) BIRAGHI A. — *Sul presunto parassitismo dell'Urocystis occulta (Wallr) Rabenh. sul frumento in Italia*. - Boll. della R. Staz. di Patol. Veg. vol. 1, 1933, pp. 174-179.

delle due specie, anche sulla immunità delle coltivazioni di segale prossime a campi di frumento infetti dal parassita.

Non abbiamo voluto omettere prove, in piccolo, in laboratorio, tendenti a riconoscere la capacità di resistenza di alcune varietà di grani, comunemente coltivati nella zona, agli attacchi da *Urocystis* scegliendo per la coltura e la infezione le seguenti cinque varietà: Zara, Mentana, Virgilio, Rieti, Gentil rosso.

Le granella, opportunamente scelte, sono state uniformemente imbrattate con spore di *Urocystis* maturate nel 1933; le semine furono fatte ai primi di febbraio del 1934, varietà per varietà, in capaci casse di cemento disposte in una delle serre del Laboratorio. In ogni cassa il grano fu posto in sei file equidistanti circa cm. 8 e mentre le granella poste nelle prime quattro file non furono assoggettate a nessun trattamento, quelle delle due file esterne furono, dopo eseguito l'imbrattamento con *Urocystis*, disinfettate le une con polvere Caffaro, le altre con immersione in soluzione di solfato di rame all' 1 % per mezz' ora, seguita da neutralizzazione in latte di calce.

La nascita e il successivo sviluppo erbaceo dei grani, sino alla comparsa dei primi attacchi, fu normale e uniforme in tutte le casse.

La prima comparsa della malattia si notò l'otto aprile su due piantine di *Virgilio*, quando ancora erano allo stato erbaceo.

L'esplosione dell'infezione fu potuta osservare verso la fine di aprile, prima ancora che le varietà di grano incominciassero ad essere in « botticella ».

I cespi colpiti si arrestarono nel loro sviluppo vegetativo, appassirono lentamente e poscia seccarono, senza aver dato luogo alla formazione della spiga. L'andamento quindi della manifestazione infettiva, nei grani in esperi-

mento, fu identico a quello che si verifica nelle infezioni naturali. Di un qualche interesse sono le percentuali di attacco che si notarono nelle varietà di grano coltivate :

Varietà	Piante sane	Piante infette	Percentuali d' infezione
Zara	35	4	10,24
Mentana	39	1	2,50
Virgilio	15	25	62,50
Rieti	38	2	5,00
Gentil rosso	33	5	13,15

Da questo primo risultato sembra che una varietà, il *Virgilio*, sia attaccato intensamente, mentre le altre varietà si potrebbero considerare alquanto resistenti agli attacchi di *Urocystis*. Conviene qui ricordare che le cariossidi all'atto della semina furono imbrattate con un numero grandissimo di spore quale in natura, anche nelle migliori condizioni, non si verifica; non solo, ma la gravità degli attacchi, nelle casse di sperimentazione, è risultata in certo modo, corrispondente all'intensità delle infezioni verificatesi in campo nel 1933. Infatti in quell'anno furono constatati degli attacchi di notevole importanza soltanto su *Virgilio*, con danni che, in qualche caso, determinarono anche la perdita di $\frac{1}{5}$ del prodotto. Infezioni di gran lunga inferiori, ma ancora sensibili, furono potute constatare su *Gentil rosso*, meno ancora su *Rieti*, *Zara*, *S. Maria*. Non si notarono attacchi, nè ce ne fu data notizia alcuna, su *Mentana*.

Ci sembra di un certo rilievo il fatto che, come si osserva nelle colture in campo, anche in quelle di serra si ottennero infezioni massime (del 62 %) sul *Virgilio* e minime (del 2,5 %) su *Mentana*. Crediamo dunque che, dopo ciò, possiamo essere autorizzati ad attribuire ad una certa notevole resistenza naturale i più rari attacchi su alcune varietà e ad una speciale predisposizione, a questa forma infettiva, il numero tanto più grande di attacchi del *Virgilio*.

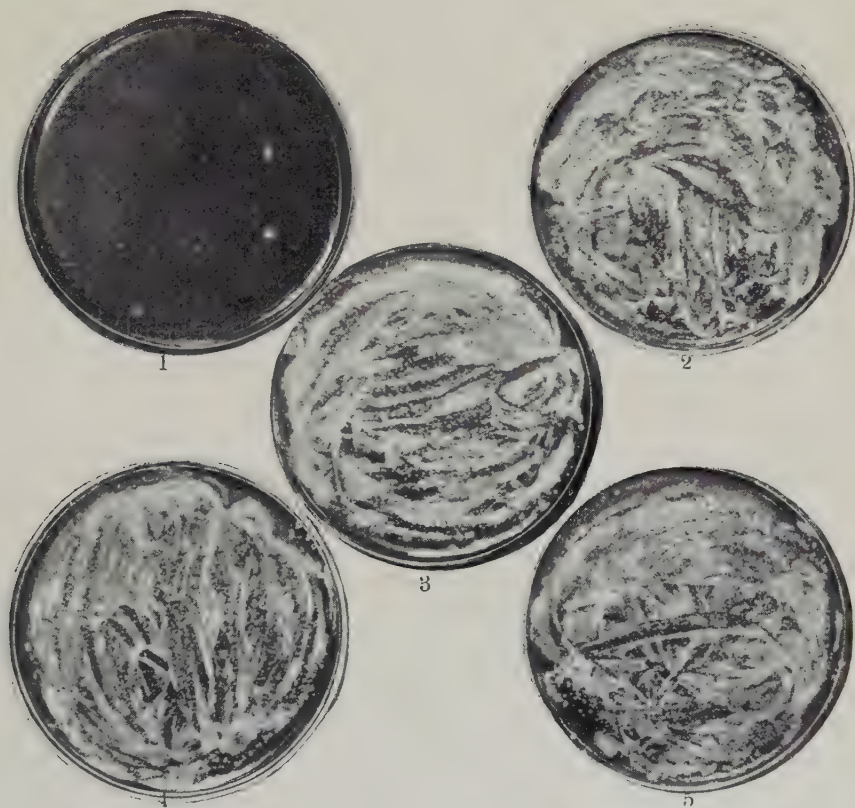
Le disinfezioni con polvere Caffaro o con soluzione di solfato di rame all' 1 %, per mezz' ora, hanno dato ottimi risultati in quanto non si notò nessun caso d' infezione dei culmi provenienti da cariossidi trattate. Anche le due file disinfettate della varietà più recettiva, il *Virgilio*, erano completamente indenni e si rilevava un notevole contrasto tra le file trattate, indenni, e quelle in cui appariva un attacco molto forte, che si notava in tutte le file le cui granella non avevano subito nessuna disinfezione.

Sicchè dobbiamo pensare che in terreni infetti, che ci consta siano una buona parte di quelli coltivati a grano nell' Umbria, le comuni disinfezioni della semente che si fanno ordinariamente da ogni agricoltore sia con polvere Caffaro, sia con soluzione di solfato di rame, ambedue efficacissime, ci debbano spiegare la sporadicità degli attacchi che di questo parassita si rileva comunemente nei campi coltivati.

Ma è anche logico pensare, e la constatata esiguità degli attacchi su grani non disinfettati ce lo dimostra, che tra le varietà coltivate, il *Mentana* il *Zara* il *Rieti* il *Gentil rosso* posseggono un' elevata resistenza all' *Urocystis* mentre una recettività del *Virgilio* all' *Urocystis* è ammissibile concordando su di essa le osservazioni di campo e quelle di laboratorio.

D' altra parte si comprende che fattori ambientali particolari debbano avere influito nell' attacco constatato, in molti anni di osservazione, soltanto nel 1933, fattori che evidentemente si presentano piuttosto raramente nel nostro comune ambiente di vegetazione.

Azione a distanza del piombo sullo sviluppo di *Penicillium glaucum* coltivato in capsule Petri su brodo agarizzato.



Nelle capsule N. 1, 3 e 5, lo sviluppo è stato fatto avvenire in presenza di lastre di piombo del diametro di cm. 9 alla distanza di cm. 0,5.

Capsula N. 1, chiusa perfettamente con paraffina.

Capsula N. 3, chiusa col semplice coperchio senza previa paraffinatura.

Capsula N. 5, completamente aperta.

Capsula N. 2, controllo senza inclusione di piombo, chiuso perfettamente con paraffina.

Capsula N. 4, controllo aperto.

Si noti la differenza di sviluppo di *Penicillium* fra la capsula N. 1, avvenuto in presenza di piombo e in capsula completamente chiusa, e gli sviluppi nelle altre capsule che possono considerarsi uguali fra di loro, siano essi controlli (N. 2 e 4) ovvero capsule nelle quali lo sviluppo di *Penicillium*, in presenza di piombo, è avvenuto in ambiente aperto (5) o comunque non isolato completamente con chiusura perfetta (3).

DOTT. CESARE SEMPIO

**Azione di alcuni metalli a distanza per contatto
ed in soluzione sullo sviluppo della “ Thielavia
basicola „ Zopf. e su altri parassiti.**

Introduzione.

Intorno agli effetti prodotti sugli organismi viventi dai *metalli a distanza*, già da qualche anno il Rivera ha detto la prima parola, che è stata successivamente da lui confermata in maniera ormai definitiva; senonchè su tale argomento, completamente nuovo e la cui portata non può essere prevista, è oggi necessario ed urgente portare una più ampia sperimentazione che consenta l'eventuale estensione del fenomeno a un maggior numero di vegetali e di animali, sia col mettere in evidenza se questi effetti si ritrovino su più vasta scala, sia col riconoscere quanto la *sensibilità* dei vari organismi per *tale azione* vari da specie a specie.

Restano inoltre da precisare alcuni punti essenziali riguardanti non tanto la causa del fenomeno in se stesso — studio questo che è di più stretta pertinenza dei fisici — ma piuttosto l'intima natura del fenomeno stesso, natura che, a giudicare dai primi risultati, sembra *variare da organismo a organismo*, forse anche in relazione alla diversa *sensibilità* dei diversi organismi.

Fin dal 1930 il Rivera ⁽¹⁾ rilevò come schermi metallici avessero un'azione nettamente esaltatrice sul ritmo di sviluppo di semi germinanti posti a 10-12 cm. dalla superficie del metallo. Due anni più tardi gli studiosi russi Nadson e Stern ⁽²⁾ trovarono invece l'effetto deprimente degli stessi e di altri metalli su colonie di batteri saprofiti posti a 1-2 mm. dalle lastre metalliche. Ulteriori ricerche sono state in seguito eseguite dai tre studiosi suddetti ⁽³⁾ ed è stato proposto dal Rivera tutto uno schema di interpretazione dei più importanti tra i vari fenomeni osservati.

Anche nell'azione a distanza si può agire con dosi deprimenti e con dosi eccitanti pure usando uno stesso metallo; naturalmente in questo tipo di fenomeni la dose è in funzione della distanza del metallo dell'organismo sottoposto alla sua azione, della superficie metallica radiante, della capacità del recipiente usato per l'esperienza e finalmente della forbitezza della superficie metallica.

È così che, pur prescindendo dalla differente sensibilità dei vari organismi, ci si possono spiegare gli effetti opposti che alcune volte uno stesso metallo dimostra su organismi diversi o anche sullo stesso organismo. Il Pb

⁽¹⁾ V. RIVERA — *Radiazione ed accrescimento dei vegetali (piante in sviluppo sotto schermo di piombo)*. - « Rendic. R. Accad. Naz. dei Lincei », vol. XI, ser. VI, 1° sem., fasc. 7, Roma, 1930; « Rendic. R. Accad. Naz. Lincei », vol. XIII, ser. VI, 1° sem., fasc. 8, Roma, 1931; « Rivista di Biologia », vol. XIII, fasc. I-III, 1931.

⁽²⁾ G. A. NADSON e C. A. STERN — « Comptes Rendus », 194, 1932, p. 1597; Id., 194, 1932, p. 2229; Id., « Zentralbl. für Bakteriologie », II Abt., 1933, Bd. 88.

⁽³⁾ V. RIVERA — « Atti Pontificia Accad. delle Scienze Nuovi Lincei », anno LXXXVI, 19 marzo 1933; ivi 23 aprile 1933; « Nuovo giorn. bot. ital. » N. S. vol. XL, p. 475, 1933; « Rendic. R. Accad. Naz. Lincei », vol. XIX, ser. 6, 1° sem., fasc. 6, marzo 1934.

G. A. NADSON e C. A. STERN — « Comptes Rend. », 3, 1934, p. 283,

che, ad esempio, si è dimostrato *eccitante* su semi di piante superiori e su *Penicillium glaucum* posti a 10-12 cm. dal metallo (Rivera), risulta invece *deprimente* su colonie di batteri sviluppanesi a 1-2 mm. dal metallo stesso (Nadson e Stern).

Parte sperimentale.

Per aggiungere qualche dettaglio al quadro così complesso e tanto interessante di questi effetti, ho intrapreso lo studio dell'azione a distanza di alcuni metalli — e cioè del *Pb*, dell'*Au*, del *Cu*, del *Pt*, dell'*Ag* e dell'*Al* — sulla germinazione e successivo sviluppo dei conidi di un micete parassita del tabacco, la *Thielavia basicola* Zopf., fungo che, nelle prove preliminari, si era mostrato notevolmente *sensibile a tali azioni*.

È stata inoltre, e successivamente, provata la sensibilità dell'*Erysiphe graminis* e della *Puccinia graminis* alle suddette azioni.

Da ultimo è stata studiata, ancora sulla *Thielavia*, l'azione degli stessi metalli sia *per contatto* che *in soluzione*; con questo studio si sarebbe avuto, come si comprende, un quadro più completo dei *diversi effetti* esercitati dagli *stessi metalli* sullo *stesso organismo*, quadro che ci avrebbe dato punti diversi di riferimento per potere in qualche modo renderci conto più esatto dei rapporti intercorrenti fra questi vari effetti.

Azione a distanza dei metalli sulla *Thielavia basicola*.

Per potere bene tener dietro agli inizi di germinazione, fare facilmente la conta delle spore germinate, misurare con una certa precisione gli allungamenti dei tubi

promicelici e seguire poi per un certo tempo lo sviluppo del fungo, mi sono valso di serie di preparati a goccia pendente, costituiti da portaoggetti di notevole spessore (5-6 mm.), che portavano scavata una cameretta profonda dai 3 ai 4 mm.

Anzitutto sono state costruite tante *piccole spirali* con *filo* dei vari metalli destinati alla prova; esse avevano al centro uno spazio di 3-4 mm. di diametro, attraverso il quale era permessa la visione microscopica. Le spirali venivano prima bene *raschiate* con carta vetrata, in modo da mettere completamente a nudo il metallo dalle eventuali incrostazioni (dovute in gran parte a composti) e poi poste nel fondo della piccola camera umida del portaoggetti (1).

A questo punto preparavo in serie, sotto un coperchio di vetro, i coprioggetti tenuti prima in alcool puro e poi bruciati alla fiamma e, manovrando sterilmente, disseminavo su gocce di brodo di carne o di altro substrato liquido, preventivamente depositate su ciascun vetrino, un' ansata di una sospensione omogenea di conidi di *Thielavia*. Poi voltavo i vetrini stessi sui portaoggetti

(1) È superfluo dire che, secondo il nostro pensiero, il fare uso di spirali metalliche non rappresenta altro che uno dei mezzi più comodi, nel caso nostro, di *porre il metallo a distanza* e che, per conseguenza, rifiutiamo qualunque interpretazione del nostro metodo di sperimentare che tenda a riportarlo alla sperimentazione, già da altri precedentemente praticata, con *circuiti* così detti *oscillanti*.

Soltanto a puro titolo di informazione ricordiamo che prove fatte sopra vegetali superiori mediante *circuiti oscillanti* di differenti metalli (Ag, Pb e Cu) hanno dato effetti biologici (Labergerie citato da Lakhowsky in « L' oscillation cellulaire » p. 62, Doin e C., 1931).

Nel caso nostro, nel quale, ripetiamo, per *comodità di sperimentazione* abbiamo adoperato fili metallici, non si può, ci sembra, parlare di *circuiti oscillanti*, ai quali del resto mancherebbe quell' *isolamento*

già preparati, facendo in modo che la goccia venisse a trovarsi proprio nello spazio vuoto lasciato al centro delle spirali metalliche; quindi lutavo con paraffina (ved. fig. 1).

In questo modo la distanza delle spore in germinazione dalle spirali metalliche era compresa *tra un massimo di 2 mm. ed un minimo di frazioni di mm.*

I preparati venivano infine portati in termostato a 25° C e, dopo 15-20 ore, esaminati, per constatare la percentuale delle spore germinate e l'allungamento dei tubi promicelici.

La *sospensione omogenea* delle spore di *Thielavia* veniva fatta prelevando parte di una cultura del fungo (su agar di brodo o su brodo liquido) e spappolandola in poca acqua distillata sterile, in modo che innanzitutto la sospensione risultasse ricca di spore. Tale sospensione veniva poi filtrata attraverso tela sterile per eliminare i frammenti di micelio e di substrato, nonchè la maggior parte delle clamidospore presenti; da ultimo essa veniva bene agitata al fine di ottenere, per quanto possibile, la più *completa omogeneità*.

Riporto qui appresso, le tabelle dei risultati di ciascuna prova, non senza premettere alcune *annotazioni* atte a meglio chiarire il significato di alcune *abbreviazioni* e di alcuni *numeri*, e inoltre ad evitare inutili ripetizioni nelle brevi descrizioni che precedono ogni prova.

tra spira e spira che si ritiene necessario perchè un apparecchio di questo genere sia capace di produrre energia oscillante. Le spirali da noi usate erano infatti costituite da spire che restavano in stretto contatto tra loro.

Del resto che la influenza biologica si debba al metallo in sè e per sè lo si deduce dalle esperienze del RIVERA, da quelle, parallele alle nostre, del CORNELI, le quali vengono pubblicate contemporaneamente a questo lavoro e infine da quelle del NADSON e STERN.

A) Notiamo che per l' *Ag a 800* e per il *Pb* sono state usate spirali di *due forme* diverse: 1) spirali fatte con *strisce piatte* di 1, 5-2 mm. di larghezza, le quali sono state contraddistinte con la lettera *p*, che segue il simbolo; 2) spirali fatte con *fili tondi* di 1-1,5 mm. di diametro, le quali sono state contraddistinte dalla lettera *t*, che segue il simbolo; pertanto, ad esempio, *Ag a 800 p*, significa che le spirali di argento erano fatte con *strisce piatte*, e così via.

B) Poichè le *docce* scavate nei portaoggetti non erano perfettamente *uguali* e poichè, d' altra parte, le *spirali* restavano quando più quando meno larghe e curve, è evidente che la *distanza* del metallo dalle spore disseminate alla superficie delle gocce non poteva essere sempre *rigidamente uguale*, ma in realtà variava da *meno di 1 mm. a 2 mm.* come massimo. Ora — dato che alcuni tra i metalli sperimentati, e specialmente il *Cu* e l' *Al*, davano spesso risultati *molto diversi* da preparato a preparato anche in una stessa prova — si è pensato che le piccole *differenze di distanza* che si riscontravano nei vari preparati influissero notevolmente sullo sviluppo del fungo; perciò sono stati *numerati* i preparati per essere certi che nello *stesso portaoggetti* andasse sempre la *stessa spirale* e quindi, in ciascuno dei preparati numerati, la *distanza* del metallo dalle spore *si conservasse identica* nelle diverse prove; il *numero* del preparato è quello che *precede* il simbolo.

C) Si noti ancora: *a)* che la filtrazione della sospensione omogenea attraverso tela è stata *omessa* nelle *prime tre* prove; *b)* che il fungo è stato *prelevato* da colture su agar di brodo per le prime 19 prove, da brodo-colture per le prove successive; *c)* che, all' infuori della *prima* prova e della 24^a, tutte le altre prove riportate sono state fatte disseminando i conidi in *brodo di carne*.

Prove fatte

per studiare l'azione a distanza di alcuni metalli
sulla germinazione di conidi di *Thielavia basicola*.

1^a Prova.

Preparati fatti il 13-XII-1933 dalle ore 19 alle 19.40, con conidi disseminati in gocce di decotto di tabacco.

I preparati sono stati tenuti a circa 20° C, e osservati il 14-XII dalle ore 10 alle 11.

Trattamento	N.º delle spore contate	N.º delle spore germinate	Percentuale di germinazione	Lunghezza massima dei tubi prom. in μ
Controllo	145	3	2	10
Ag 800 p. . . .	256	25	9,7	110
Ag 800 p. . . .	321	3	0,9	10
Controllo	163	7	4,2	45

Osservazioni. — Per ogni preparato sono stati presi in considerazione 10 diversi campi microscopici. Ciò deve intendersi anche per tutte le prove successive fino all'8^a compresa.

NB. — 1) Prima di questa prova ne sono state fatte altre 2 del tutto identiche, che hanno dato risultati pressochè uguali; si è notato cioè una *netta eccitazione* dell' Ag 800 p. sopra la germinazione e lo sviluppo delle spore in parola.

2) Per apprezzare gli allungamenti dei tubi promicelici, con lo scopo di dare un'idea abbastanza esatta dello sviluppo raggiunto dal fungo nei vari preparati, si è stati costretti a prendere in considerazione, per ciascun preparato, non l'allungamento medio dei tubi — che certo avrebbe dato un'idea più esatta del fenomeno — ma l'allungamento massimo dei tubi stessi. La ragione di questa scelta è ovvia: sarebbe stato impossibile determinare, sia pure grossolanamente, il valore dell'allungamento medio su 15-20 preparati che contenevano migliaia di spore ognuno. Del resto, all'infuori di qualche rarissimo caso di cui è stato tenuto conto, è stata sempre trovata stretta *correlazione* tra massimi allungamenti prom. e grado di sviluppo dei preparati.

2^a Prova.

Preparati fatti l'11-I-1934 dalle ore 10 alle 10,45, tenuti a circa 20° C e osservati il 12-I dalle ore 11 alle 12.

Trattamento	N.º delle spore contate	N.º delle spore germinate	Percentuale di germinazione	Lunghezza massima dei tubi prom. in µ
Controllo . . .	159	9	5,6	22
" . . .	85	6	6,9	33
Pb . . .	95	2	2	36
Pb . . .	—	—	—	—
Ag 800 p. . .	87	30	34,4	240
Ag 800 p. . .	80	28	35	230

NB. - 1) I preparati che in ogni finca portano un piccolo tratto non hanno germinato affatto. Ciò deve intendersi anche per le prove successive.

2) Tanto in questa prova che nelle successive, quando le annotazioni che precedono le prove stesse non portano che la data di preparazione e quella di osservazione dei preparati, si deve intendere che essi sono stati fatti disseminando i conidi di *Thielavia* in gocce di *brodo di carne* e che sono stati tenuti sempre alla temperatura di 25° C prima della osservazione.

3^a Prova.

Preparati fatti il 18-I-1934 dalle ore 18 alle 19, osservati il 19-I dalle ore 16 alle 17,30.

Trattamento	N.° delle spore contate	N.° delle spore germinate	Percentuale di germinazione	Lunghezza massima dei tubi prom. in μ
Controllo . . .	95	88	92,6	348
" . . .	143	126	88,1	348
Ag 800 p. . . .	176	105	59,6	324
Ag 800 p. . . .	167	144	82,2	348
Ag 800 p. . . .	182	73	40,1	240
Cu	117	26	22,2	66
Cu	—	—	—	—
Pb	215	8	3,7	12
Pb	211	48	27,7	42

4^a Prova.

Preparati fatti il 19-I-1934 dalle ore 18 alle 20 con conidi disseminati in brodo di carne glucosato al 0,5 ‰. I preparati sono stati tenuti a 25° C e osservati il 20-I dalle ore 9 alle 10,30.

Trattamento	N.° delle spore contate	N.° delle spore germinate	Percentuale di germinazione	Lunghezza massima dei tubi prom. in μ
Controllo . . .	517	278	53,7	180
" . . .	409	190	46,4	180
Ag 800 p. . . .	638	353	55,3	156
Ag 800 p. . . .	330	142	43	120
Ag 800 p. . . .	432	154	35,6	132
Cu	—	—	—	—
Cu	388	44	12,6	72
Pb	388	132	34	96
Pb	690	25	3,6	48
Controllo . . .	355	220	62	204

5^a Prova.

Preparati fatti il 19-I-1934 dalle ore 11 alle 13 nel modo identico a quello usato nella prova precedente, ma tenuti alla temperatura ambiente (circa 15° C.). Sono stati osservati il 20-I, dalle ore 15 alle ore 17.

Trattamento	N.° delle spore contate	N.° delle spore germinate	Percentuale di germinazione	Lunghezza massima dei tubi prom. in μ
Controllo . . .	292	141	48,2	144
" . . .	190	107	56,3	168
Ag 800 p. . . .	250	37	14,8	84
Ag 800 p. . . .	233	146	62,6	168
Pb	333	33	10	36
Pb	452	37	8,1	24
Cu	244	37	15,1	120
Cu	281	3	1	12
Al	260	81	31,1	144
Al	349	168	48,1	—
Controllo . . .	290	184	63,4	—

6^a Prova.

Preparati fatti il 30-I-1934 dalle ore 18 alle 19, tenuti a 25° C per 15 ore, poi a 4° per 5 ore ed osservati il 31-I dalle ore 15 alle 17.

Trattamento	N.° delle spore contate	N.° delle spore germinate	Percentuale di germinazione	Lunghezza massima dei tubi prom. in μ
Controllo	273	135	49,4	180
"	184	88	47,8	168
Pb	368	90	24,4	60
Pb	451	28	6,2	36
Cu	240	64	26,6	108
Cu	265	103	38,8	168
Ag 800 p. . . .	227	164	50,1	144
Ag 800 p. . . .	245	104	42,4	120
Al	239	141	59	192
Al	316	57	18	132

7^a Prova.

Preparati fatti il 30-I-1934 dalle ore 19 alle 20 con conidi disseminati in gocce di brodo glucosato all' 1 0/0.

I preparati sono stati tenuti a 25° C. per circa 24 ore e poi a 15° C. per circa 18 ore.

Osservati l' 1-II-1934 dalle ore 10,30 alle 12,30.

Trattamento	N.° delle spore contate	N.° delle spore germinate	Percentuale di germinazione	Lunghezza massima dei tubi prom. in μ
Controllo	320	101	31,5	168
Pb	488	102	20,9	72
Pb	637	49	7,7	60
Controllo	233	126	54	180
Cu	415	198	47,7	240
Cu	296	12	4	84
Ag 800 p.	622	219	35,2	144
Ag 800 p.	213	131	61,5	252
Al	426	203	47,6	240
Al	332	157	47,6	246

Osservazioni. - Dal confronto di questa prova con la precedente risulta anche che il glucosio ha ritardato lo sviluppo delle spore.

8^a Prova.

Preparati fatti l'8-II-1934 dalle ore 18 alle 20 e tenuti a 25° C. I preparati del *I gruppo* sono stati osservati il 9-II-1934 dalle ore 9 alle 12, quelli del *II gruppo* lo stesso giorno dalle 16 alle 19; nel frattempo sono stati tenuti alla temperatura di 6° circa, per arrestarne lo sviluppo.

Trattamento	N.° delle spore contate	N.° delle spore germinate	Percentuale di germinazione	Lunghezza massima dei tubi prom. in μ
<i>I gruppo</i>				
Controllo . . .	671	260	38,7	192
" . . .	401	100	25	288
Pb . . .	933	136	14,5	72
Pb . . .	898	67	7,4	84
Pb . . .	775	117	15	96
Ag 800 p. . .	122	36	29,5	240
Cu . . .	445	167	37,5	300
Al . . .	650	319	49	264
<i>II gruppo</i>				
Cu . . .	753	189	25,1	288
Cu . . .	—	—	—	—
Ag 1000 . . .	704	11	1,5	96
Ag 800 p. . .	324	163	50,3	384
Al . . .	420	90	21,4	144
Al . . .	561	83	14,7	192
Controllo . . .	870	152	17,4	228
Pb . . .	816	57	6,9	—

9^a Prova.

Preparati fatti il 10-II-1934 dalle ore 18 alle 19, tenuti a 15° C. per circa 15 ore, poi a 25° C. per 7 ore e infine rimessi a 15° C.; osservati il 12-II dalle ore 17 alle 19,45.

Trattamento	N.° delle spore contate	N.° delle spore germinate	Percentuale di germinazione	Lunghezza massima dei tubi prom. in μ
1 Pb paraff. . . .	561	205	38,3	360
Pb	241	29	12	60
Controllo	270	72	26,6	240
"	180	94	52,2	326
1 Ag. 800 p. . . .	364	148	40,6	314
2 Ag 1000	—	—	—	—
1 Cu	—	—	—	—
2 Cu	—	—	—	—
3 Cu	279	81	28,3	300
1 Al	314	107	34	240
2 Al	299	20	6,6	72
3 Al	331	105	31,7	252
Pb	210	64	30,4	100
Pb paraff.	185	37	20	240
Pb "	—	—	—	—

Osservazioni. - Per ogni preparato sono stati presi in considerazione 6 diversi campi microscopici. Ciò deve intendersi anche per le prove successive fino alla 11^a compresa.

NB. - Circa il significato dei numeri che precedono i simboli, tanto in questa che nelle prove successive (fino alla 17^a), si veda la spiegazione a pag. 418.

10^a Prova.

Preparati fatti il 13-II-1934 dalle ore 18 alle 19, osservati il 15-II dalle ore 16 alle 18.

Trattamento	N.° delle spore contate	N.° delle spore germinate	Percentuale di germinazione	Lunghezza massima dei tubi prom. in μ
Controllo . . .	115	45	39,1	324
„ . . .	135	6	4,4	132
Pb . . .	124	18	14,5	60
2 Pb paraff. . .	117	6	5,1	18
3 Pb „ . .	180	10	5,5	102
3 Ag 800 p. . .	81	38	46,9	420
1 Cu . . .	99	4	4	18
2 Cu . . .	153	34	22,2	216
1 Pb paraff. . .	130	49	37,6	336
Controllo . . .	81	49	60,5	420
1 Al . . .	86	49	57	260
1 Ag 800 p. . .	—	—	—	—
2 Ag 1000 . . .	—	—	—	—
4 Ag 1000 . . .	—	—	—	—
3 Cu . . .	—	—	—	—
2 Al . . .	—	—	—	—
3 Al . . .	—	—	—	—
Pb . . .	—	—	—	—
Pb . . .	—	—	—	—

11^a Prova.

Preparati fatti il 16-II-1934 dalle ore 9 alle 20,30, osservati il 17-II dalle ore 10 alle 13.

Trattamento	N.° delle spore contate	N.° delle spore germinate	Percentuale di germinazione	Lunghezza massima dei tubi prom. in μ
Controllo . . .	111	52	46,8	216
" . . .	215	122	56,7	192
Pb . . .	97	4	4,1	18
Pb . . .	149	13	8,7	24
1 Pb paraff. . .	121	44	36,3	192
Controllo . . .	140	88	62,8	240
3 Pb paraff. . .	115	42	36,5	156
4 Pb " . . .	105	4	3,8	48
5 Pb " . . .	225	81	36	192
1 Ag 800 p. . .	257	128	49,8	192
3 Ag 800 p. . .	129	52	40,3	240
4 Ag 1000 . . .	204	24	11,7	84
2 Cu . . .	360	85	23,6	120
3 Cu . . .	87	13	14,9	144
Controllo . . .	127	38	30	96
2 Al . . .	134	9	6,7	72
3 Al . . .	309	19	6,1	60
2 Ag 1000 . . .	—	—	—	—
2 Pb paraff. . .	—	—	—	—
1 Cu . . .	—	—	—	—

12^a Prova.

Preparati fatti il 6-III-1934 dalle ore 19,30 alle 21, osservati il 7-III dalle ore 9,45 alle 12,30.

Trattamento	N. ^o delle spore contate	N. ^o delle spore germinate	Percentuale di germinazione	Lunghezza massima dei tubi prom. in μ
Controllo . . .	170	148	87	156
4 Ag 1000 . . .	109	33	30,2	84
3 Cu	74	53	71,6	144
2 Pb paraff. . .	76	47	61,8	144
2 Al	70	4	5,7	12
Ag 1000	148	130	87,8	168
Controllo	63	60	95,2	168
3 Ag 800 p. . . .	86	71	82,5	180
3 Pb paraff. . . .	71	63	88,7	192
2 Cu	81	48	59,2	84
Pb	92	5	5,4	18
2 Ag 1000	133	46	34,5	60
Controllo	102	95	93,1	216
4 Pb paraff. . . .	113	108	95,5	192
5 Pb "	129	121	93,7	204
1 Al	75	64	85,3	144
Ag 1000	70	48	68,5	144
Pb	70	2	2,8	6
1 Cu	144	29	20,1	60
Controllo	118	112	94,9	204
3 Al	74	70	94,5	168
1 Ag 800 p. . . .	82	72	87,8	216
1 Pb paraff. . . .	103	97	94,1	204

Osservazioni. - Per ogni preparato sono stati presi in considerazione 5 campi microscopici. Ciò deve intendersi anche per tutte le prove successive.

13^a Prova.

Preparati fatti il 17-III-1934 dalle ore 18 alle 19,30, osservati il 18-III dalle ore 10,30 alle 13.

Trattamento	N.º delle spore contate	N.º delle spore germinate	Percentuale di germinazione	Lunghezza massima dei tubi prom. in µ
Controllo . . .	88	73	83	252
5 Ag 1000 . . .	111	105	94,6	300
6 Ag 1000 . . .	100	68	68	144
1 Pt	107	98	91,5	288
1 Au	80	75	93,5	336
Pb	89	8	9	30
2 Pb paraff. . .	103	95	92,2	336
Controllo . . .	52	34	65,3	84
4 Ag 1000 . . .	104	93	89,4	216
1 Ag 800 p. . .	46	44	95,6	420
2 Pt	177	85	72,6	156
2 Au	80	77	96,2	276
2 Ag 1000 . . .	123	90	73,1	144
Pb	63	2	3,1	24
4 Pb paraff. . .	115	112	97,4	300
Controllo . . .	70	69	98,5	336
7 Ag 1000 . . .	63	62	98,4	396
3 Ag 800 p. . .	114	111	97,3	276
1 Au	98	88	89,8	228
3 Pt	65	59	90,7	252
Controllo . . .	117	105	89,7	204

14^a Prova.

Preparati fatti il 19-III-1934 dalle ore 10 alle 12, osservati il 23-III dalle ore 16 alle 20,30.

Trattamento	N. ^o delle spore contate	N. ^o delle spore germinate	Percentuale di germinazione	Lunghezza massima dei tubi prom. in μ
Controllo . . .	116	90	77,5	240
2 Ag 1000 . . .	124	81	65,3	180
5 Ag 1000 . . .	201	126	62,6	192
3 Pt	183	123	67,1	204
2 Au	94	77	78,5	132
Pb	151	3	2	48
2 Pb paraff. . .	104	71	68,2	276
Controllo . . .	104	87	83,6	180
7 Ag 1000 . . .	77	65	84,4	324
1 Ag 800 <i>p.</i> . .	40	35	87,5	360
1 Pt	123	100	81,3	216
1 Au	211	170	80,5	300
Pb	183	11	6	60
4 Pb paraff. . .	127	115	90,5	300
Controllo . . .	326	260	79,7	192
6 Ag 1000 . . .	105	97	92,3	324
3 Ag 800 <i>p.</i> . .	141	127	90	336
2 Pt	227	179	78,8	276
3 Au	106	88	83	240
4 Ag 1000 . . .	119	96	80,6	324
Controllo . . .	79	72	91,1	545

15^a Prova.

Preparati fatti il 21-III-1934 dalle ore 18 alle 19,30. I preparati sono stati tenuti a 25° C. per circa 20 ore, poi a circa 11° C., e osservati il 23-III dalle ore 10 alle 13,30.

Trattamento	N.° delle spore contate	N.° delle spore germinate	Percentuale di germinazione	Lunghezza massima dei tubi prom. in μ
Controllo . . .	50	48	96	408
1 Ag 800 p. . .	69	66	95,6	408
1 Pt	93	77	82,8	204
2 Au	98	77	78,5	156
Pb	86	5	58	24
2 Pb paraff. . .	36	111	81,6	228
5 Ag 1000 . . .	74	77	90,5	228
2 Ag 1000 . . .	71	53	74,6	144
Controllo . . .	83	82	98,8	384
3 Pt	62	55	88,7	324
1 Au	56	48	85,7	360
Pb	162	1	0,6	18
4 Pb paraff. . .	63	61	96,8	444
6 Ag 1000 . . .	63	60	95,2	300
3 Ag 300 p. . .	106	100	94,3	420
Controllo . . .	66	60	90,9	348
2 Pt	73	64	87,6	312
3 Au	69	68	98,5	312
4 Ag 1000 . . .	73	68	93,1	384
Controllo . . .	121	101	83,4	240

16^a Prova.

Preparali fatti il 21-III-1934 dalle ore 19,30 alle 20,30 con una sospensione di conidi tenuta per 10' a 40° C. al fine di abbassare la loro vitalità. Tale trattamento aveva lo scopo di mettere in evidenza se, abbassando la vitalità dei conidi, fossero apparsi più netti o meno gli effetti eccitanti prodotti dall' Ag a 800 p. I preparati sono stati osservati il 23-III dalle ore 18 alle 19.

Trattamento	N.° delle spore contate	N.° delle spore germinate	Percentuale di germinazione	Lunghezza massima dei tubi prom. in μ
Controllo . . .	50	42	84	420
Ag 800 p. . . .	77	67	87	540
Ag 800 p. . . .	46	40	87	600
Controllo . . .	43	33	76,7	480
Ag 1000	84	75	89,2	780

Osservazioni. - Dalla tabella si rileva che, abbassando la vitalità dei conidi, gli effetti eccitanti, prodotti dall' Ag a 800 p. sullo sviluppo di essi, non si sono né *accentuati* né *attenuati*.

17^a Prova.

Preparati fatti il 24-III-1934 dalle ore 18 alle 20 con una sospensione di conidi tenuta per 15' a 40° C. I preparati sono stati osservati il 26-III dalle ore 15,30 alle 19,30.

Trattamento	N.° delle spore contate	N.° delle spore germinate	Percentuale di germinazione	Lunghezza massima dei tubi prom. in μ
Controllo	90	70	77,7	720
3 Ag 800 p. . . .	48	34	70,8	720
3 Au	152	104	67,7	228
Pb	73	3	4,1	48
Pb paraff.	72	46	63,8	720
2 Ag 1000	81	57	70,3	348
Controllo	144	98	68,1	764
Ag 800 p.	55	45	81,8	720
2 Au	82	57	69,5	576
1 Pt	179	119	66,4	360
5 Ag 1000	173	96	55,4	96
Pb	251	4	1,5	48
Controllo	104	52	50	216
6 Ag 1000	74	49	66,2	300
4 Pb paraff. . . .	54	35	64,8	720
2 Pt	99	54	54,5	36
1 Ag 800 p. . . .	114	75	65,7	780
7 Ag 1000	49	41	83,6	660
Controllo	83	61	73,4	1080
4 Ag 1000	82	54	65,8	720
3 Pt	—	—	—	—

18^a Prova.

Preparati fatti il 4-IV-1934 dalle ore 18 alle 20. I preparati del 1° gruppo sono stati osservati il 5-IV dalle ore 11 alle 13; quelli del 2° gruppo il 10-IV dalle ore 19,30 alle 20,30.

Trattamento	N.° delle spore contate	N.° delle spore germinate	Percentuale di germinazione	Lunghezza massima dei tubi prom. in μ
<i>I gruppo</i>				
Controllo	102	29	28,5	192
Pb	103	3	2,9	36
Pb	180	7	3,8	42
Pb	97	2	2,1	36
Controllo	82	58	70,7	324
Pb paraff.	87	67	77	300
Ag 800 p.	126	109	86,5	324
Ag 1000	86	76	88,3	300
Controllo	119	107	90	360
Pb paraff.	113	106	93,8	360
Ag 800 p.	96	93	96,8	408
Controllo	78	63	82	420
<i>II gruppo</i>				
Controllo	99	77	77,7	480
Ag 800 p.	147	125	85	456
Pb	258	10	3,8	108
Pb. paraff.	151	114	75	540

Osservazioni. - Il II gruppo è stato osservato a qualche giorno di distanza dal I, perchè ha ritardato molto lo sviluppo.

19^a Prova.

Preparati fatti il 6-IV-1934 dalle ore 18 alle 20. I preparati sono stati osservati l'8-IV dalle ore 18 alle 19,30, fuorchè i primi 4 con Pb, che sono stati osservati dalle 11,45 alle 12,30 dello stesso giorno.

Trattamento	N.º delle spore contate	N.º delle spore germinate	Percentuale di germinazione	Lunghezza massima dei tubi prom. in μ
Pb	72	2	2,7	48
Pb	59	2	3,4	66
Pb	105	3	2,8	72
Pb	76	2	2,6	84
Controllo	94	88	93,6	384
Pt	113	109	96,4	384
Au	132	124	94	288
Controllo	88	75	85,2	408
Pt	66	48	72,7	288
Au	68	59	86,7	360
Controllo	133	124	98,2	420
Pt	66	57	86,3	264
Au	105	93	88,5	312
Controllo	75	71	94,6	504

Osservazioni. - Insieme ai 4 preparati con Pb ne sono stati fatti altri 6 che hanno germinato in modo pressochè uguale a quelli riportati; pertanto i dati ad essi relativi sono stati tralasciati. Però è opportuno richiamare l'attenzione sull'uniformità di comportamento che questi 10 preparati con Pb hanno manifestato.

20^a Prova.

Preparati fatti il 22-V-1934 dalle ore 11 alle 13. I preparati del 1° gruppo sono stati osservati il 23-V dalle ore 9,30 alle 11,45; quelli del 2° gruppo dalle ore 16 alle 18,15 dello stesso giorno.

Trattamento	N.° delle spore contate	N.° delle spore germinate	Percentuale di germinazione	Lunghezza massima dei tubi prom. in μ
<i>I gruppo</i>				
Controllo	96	95	98,9	384
Ag 800 p. . . .	124	119	95,9	360
Cu	85	79	92,9	348
Al	129	111	86	192
Au	117	115	98,2	384
Pt	96	89	92,7	360
Ag 800 t. . . .	132	123	93,1	288
Ag 1000	114	107	93,8	360
Pb	119	5	4,2	36
<i>II gruppo</i>				
Cu	121	121	100	456
Al	111	94	84,6	288
Au	131	126	96,1	516
Pt	128	122	95,3	540
Ag 800 t. . . .	96	93	96,8	360
Ag 800 p. . . .	118	111	94	600
Controllo	125	123	98,4	600
Pb	96	4	4,1	144
Ag 1000	103	89	86,4	456

21^a Prova.

Preparati fatti il 26-V-1934 dalle ore 17 alle 18,30. I preparati del 1° gruppo sono stati osservati il 27-V dalle ore 10 alle 12; quelli del 2° gruppo dalle 17,30 alle 19,30 dello stesso giorno.

Trattamento	N.° delle spore contate	N.° delle spore germinate	Percentuale di germinazione	Lunghezza massima dei tubi prom. in μ
<i>I gruppo</i>				
Controllo . . .	90	68	75,5	220
Ag 800 p. . . .	84	76	90,4	300
Au	86	79	91,8	228
Al	112	89	79,4	252
Pb t.	117	1	0,8	36
Pt	81	69	85,1	252
Ag 1000	77	35	45,4	180
Pb p.	155	1	0,6	24
Ag 800 t. . . .	126	8	6,3	182
Cu	97	76	78,3	228
Pb paraff. . . .	132	58	43,9	132
<i>II gruppo</i>				
Pb paraff. . . .	102	29	28,4	84
Cu	74	66	89,2	360
Ag 800 t. . . .	114	54	47,3	300
Pb p.	228	1	0,4	30
Ag 1000	124	85	68,5	276
Pt	102	84	82,3	336
Pb t.	161	1	0,6	48
Al	82	78	95,1	420
Au	79	11	13,9	144
Ag 800 p. . . .	87	78	89,6	504
Controllo	120	117	97,5	492

22ª Prova.

Preparati fatti l'8-V-1934 dalle ore 17 alle 19. I preparati sono stati tenuti per 20 ore a 25° C., poi alla temperatura ambiente (circa 20° C.). In questa prova e nella successiva sono stati misurati prima tutti gli allungamenti e poi tutte le percentuali di germinazione. Dei preparati del 1° gruppo sono stati osservati gli allungamenti il 29-V dalle ore 16 alle 17, e le percentuali di germinazione il 30-V dalle ore 9,15 alle 10,15; di quelli del 2° gruppo sono stati osservati gli allungamenti il 29-V dalle ore 19,30 alle 20,30 e le percentuali di germinazione il 30-V dalle 10,20 alle 11,30.

Trattamento	N.º delle spore contate	N.º delle spore germinate	Percentuale di germinazione	Lunghezza massima dei tubi prom. in µ
<i>I gruppo</i>				
Controllo . . .	60	58	96,6	516
Cu	68	64	94,1	420
Al	65	65	100	420
Pb p. paraff. . .	80	23	28,7	84
Ag 1000 . . .	81	78	96,3	360
Au	95	91	95,7	444
Pt	50	49	98	420
Ag 800 p. . . .	50	49	98	480
Ag 800 t. . . .	73	58	79,4	264
<i>II gruppo</i>				
Ag 800 t. . . .	70	66	94,3	444
Ag 800 p. . . .	56	56	100	600
Pt	64	63	98,4	636
Au	77	75	97,4	600
Ag 1000 . . .	80	74	92,5	540
Pb p. paraff. . .	87	28	32,1	108
Al	65	60	92,3	480
Cu	117	113	96,5	456
Controllo . . .	73	70	95,9	660

23^a Prova.

Preparati fatti il 7-VI-1934 dalle ore 18 alle 19,30. Dei preparati del 1° gruppo sono stati osservati gli allungamenti l'8-VI dalle ore 10 alle 10,45, e le percentuali di germinazione dalle ore 11,30 alle 13 dello stesso giorno; di quelli del 2° gruppo sono stati osservati gli allungamenti l'8-VI dalle ore 10,45 alle 11,30 e le percentuali di germinazione dalle ore 17 alle 19,30 dello stesso giorno.

Trattamento	N.º delle spore contate	N.º delle spore germinate	Percentuale di germinazione	Lunghezza massima dei tubi prom. in μ
<i>I gruppo</i>				
Controllo . . .	96	64	66,6	192
Cu	98	65	66,3	204
Al	86	25	29	72
Ag 800 t. . . .	99	49	49,5	156
Ag 800 p. . . .	89	72	80,9	192
Au	85	62	72,9	168
Pt	88	63	71,6	168
Ag 1000	89	69	77,5	180
Pb t.	141	4	2,8	48
Pb p.	132	2	1,4	60
Pb p. paraff. . .	88	48	54,5	192
<i>II gruppo</i>				
Pb p. paraff. . .	94	65	69,1	216
Pb p.	132	1	0,7	24
Pb t.	136	1	0,7	36
Ag 1000	105	83	79	228
Pt	84	61	72,5	204
Au	94	65	69,1	204
Ag 800 p. . . .	85	70	82,3	252
Ag 800 t. . . .	71	45	63,3	156
Al	93	57	61,3	144
Cu	81	53	65,4	216
Controllo	116	84	72,4	252

25^a Prova.

Preparati fatti il 4-VII-1934 dalle ore 17 alle 18, osservati il 6-7 dalle ore 12 alle 13.

Trattamento	N.º delle spore contate	N.º delle spore germinate	Percentuale di germinazione	Lunghezza massima dei tubi prom. in μ
Ag 800 t. . . .	161	86	53,4	264
Controllo	105	101	96,2	960
Ag 800 t. . . .	95	53	55,7	360
Controllo	73	60	82,2	420
Ag 800 t. . . .	83	78	94	720

Per avere un'idea globale e più esatta dell'azione a distanza di ciascun metallo, in rapporto al controllo, sono state fatte le *nove tabelle* seguenti che riassumono i risultati di tutte le precedenti prove.

Per ciascun metallo e per ciascuna prova le tabelle riportano, separatamente, le medie delle percentuali di germinazioni e quelle degli allungamenti dei tubi promicelici. Le tabelle riportano inoltre, nell'ultima finca, la *media generale* ottenuta dalle singole medie di ciascuna prova; anche questo dato — che è in fondo la *sintesi* di tutta la sperimentazione sull'argomento — ha notevole importanza nel consentire una più esatta valutazione dei fatti osservati, orientando così meglio alle conclusioni che si possono trarne.

I numeri stampati in *grassetto corsivo* indicano le prove nelle quali vi è stata l'*inversione dei valori*, e cioè

quelle prove in cui la *media dei valori delle percentuali di germinazione o degli allungamenti è stata maggiore nei preparati con metallo che nei rispettivi controlli.*

Da queste tabelle, come da un *grafico*, si può a prima vista farsi un chiaro concetto dell'*azione più o meno deprimente, e talora anche di quella prevalentemente eccitante*, che i vari metalli presi in considerazione esercitano sulla germinazione e sullo sviluppo delle spore di *Thielavia*. Infatti quanto è *maggiore*, per ciascun metallo, il *numero delle prove riportate in grassetto* rispetto a quelle scritte a caratteri normali, tanto *minore è l'azione deprimente* del metallo, finchè, *nell'Ag a 800 p.*, il *numero delle prove trascritte in grassetto* è quasi *doppio* di quello delle *prove normali*; in questo caso, e lo confermano anche le medie finali, è dunque evidente *non un'azione depressiva*, ma bensì *un'azione leggermente eccitante* del metallo sulle germinazioni in esame.

Nel calcolo delle medie sono compresi i preparati che non hanno germinato, perchè la mancata germinazione, mentre è piuttosto frequente in preparati con metalli, non è mai stata rilevata nei controlli; ciò ci fa dunque ritenere che tali risultati negativi non siano da attribuirsi ad un *caso fortuito*.

TABELLA I.

Effetti del *Pb* sulla percentuale di germinazione

Prove	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.
Controllo	6,1	90,3	54	56,3	48,6	42,7	27	39,4	34,7	49	92,5
Pb	1	15,7	18,8	9	15,3	14,3	10,3	21,2	4,8	6,4	4,1

Prove	XIII.	XIV.	XV.	XVII.	XVIII.	XIX.	XX.	XXI.	XXIII.	Media
Controllo	84,1	55,5	92,2	67,3	69,7	91,6	98,6	86,5	69,5	63
Pb	6	4	29,3	2,8	3,1	2,8	4,1	0,7	1,8	8,8

e sull'allungamento dei tubi promicelici

Prove	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.
Controllo	27	348	188	156	174	174	236	283	292	186	186
Pb	18	27	72	30	48	66	84	80	20	21	12

Prove	XIII.	XIV.	XV.	XVII.	XVIII.	XIX.	XX.	XXI.	XXIII.	Media
Controllo	219	289	345	695	355	429	492	366	222	283
Pb	27	54	21	48	55	67	91	42	42	46

TABELLA II.

Effetti del *Cu* sulla percentuale di germinazione

Prove	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.
Controllo	90,3	54	56,3	48,6	42,7	27	39,4	34,7	49	92,5
Cu	11,1	6,3	8	32,7	25,8	20,8	9,4	8,7	12,8	50,3

Prove	XX.	XXI.	XXII.	XXIII.	Media
Controllo	98,6	86,5	96,2	69,5	63,2
Cu	96,4	83,7	95,3	65,8	37,6

e sull'allungamento dei tubi promicelici

Prove	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.
Controllo	348	188	156	174	174	236	283	292	186	186
Cu	33	36	66	138	162	196	100	78	88	96

Prove	XX.	XXI.	XXII.	XXIII.	Media
Controllo	492	366	588	222	278
Cu	402	294	438	210	166

TABELLA III.

Effetti del *Al* sulla percentuale di germinazione

Prove	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.	XX.
Controllo	56,3	48,6	42,7	27	39,4	34,7	49	92,5	98,6
Al	39,6	38,5	47,6	28,3	24,1	19	6,4	61,8	85,3

Prove	XXI.	XXII.	XXIII.	Media
Controllo	86,5	96,2	69,5	61,7
Al	87,2	96,1	45,1	48,2

e sull'allungamento dei tubi promicelici

Prove	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.	XX.
Controllo	156	174	174	236	283	292	186	186	492
Al	144	162	243	200	188	87	66	108	240

Prove	XXI.	XXII.	XXIII.	Media
Controllo	366	588	222	280
Al	336	450	108	197

TABELLA IV.

Effetti del *Pb paraffinato* sulla percentuale di germinazione

Prove	IX.	X.	XI.	XII.	XIII.	XIV.	XV.	XVII.	XVIII.
Controllo	39,4	34,7	49	92,5	84,1	55,5	92,2	67,3	69,7
Pb paraffinato	16,1	16,1	22,5	86,8	94,8	79,3	89,2	64,3	81,9

Prove	XXI.	XXII.	XXIII.	Media
Controllo	86,5	96,2	69,5	69,7
Pb paraffinato	36,1	30,4	61,8	56,6

e sull'allungamento dei tubi promicelici

Prove	IX.	X.	XI.	XII.	XIII.	XIV.	XV.	XVII.	XVIII.
Controllo	283	292	186	186	219	289	345	695	355
Pb paraffinato	200	152	117	187	318	288	336	720	400

Prove	XXI.	XXII.	XXIII.	Media
Controllo	366	588	222	335
Pb paraffinato	108	96	204	260

TABELLA V.

Effetti dell'Ag a 1000 sulla percentuale di germinazione

Prove	VIII.	XI.	XII.	XIII.	XIV.	XV.	XVI.	XVII.	XVIII.	XIX.
Controllo	27	49	92,5	84,1	55,5	92,2	53,5	67,3	69,7	98,6
Ag 1000	1,5	5,8	55,2	84,7	77	88,3	89,2	68,2	88,3	90,1

Prove	XX.	XXI.	XXII.	Media
Controllo	86,5	96,2	69,5	72,4
Ag 1000	56,9	94,4	78,4	67,5

e sull'allungamento dei tubi promicelici

Prove	VIII.	XI.	XII.	XIII.	XIV.	XV.	XVI.	XVII.	XVIII.	XIX.
Controllo	236	186	186	219	289	345	300	695	355	492
Ag 1000	96	42	114	240	269	264	780	424	300	408

Prove	XX.	XXI.	XXII.	Media
Controllo	366	588	222	345
Ag 1000	228	450	204	294

TABELLA VI.

Effetti dell'*Au* sulla percentuale di germinazione

Prove	XIII.	XIV.	XV.	XVII.	XIX.	XX.	XXI.	XXII.	XXIII.	Media
Controllo	84,1	55,5	92,2	67,5	91,6	98,6	86,5	96,2	69,5	82,4
Au	93,1	80,6	87,5	68,6	89,7	97,1	52,8	96,5	71	81,9

e sull'allungamento dei tubi promicelici

Prove	XIII.	XIV.	XV.	XVII.	XIX.	XX.	XXI.	XXII.	XXIII.	Media
Controllo	219	289	345	695	429	492	366	588	222	405
Au	280	224	276	402	320	420	186	522	186	313

TABELLA VII.

Effetti del *Pt* sulla percentuale di germinazione

Prove	XIII.	XIV.	XV.	XVII.	XIX.	XX.	XXI.	XXII.	XXIII.	Media
Controllo	84,1	55,5	92,2	67,3	91,6	98,6	86,5	96,2	69,5	82,4
Pt	84,9	75,7	86,3	40,3	85,1	94	83,7	98,2	72	80

e sull'allungamento dei tubi promicelici

Prove	XIII.	XIV.	XV.	XVII.	XIX.	XX.	XXI.	XXII.	XXIII.	Media
Controllo	219	289	345	695	429	492	366	588	222	405
Pt	232	232	280	132	312	450	294	528	186	294

TABELLA VIII.

Effetto dell' *Ag* a 800 p. sulla percentuale di germinazione

Prove	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.
Controllo	3,1	6,1	90,3	54	56,3	48,6	42,7	27	39,4	34,7	49	92,5
Ag 800 p.	5,3	34,7	60,6	44,6	38,7	46,2	48,3	39,9	40,6	23,4	45	85,1

Prove	XIII.	XIV.	XV.	XIV.	XVII.	XVIII.	XX.	XXI.	XXII.	XXIII.	Media
Controllo	84,1	55,5	92,2	80,3	67,3	69,7	98,6	86,5	96,2	69,5	60,6
Ag 800 p	96,4	88,8	94,9	87	72,7	89,4	94,9	90	99	81,6	63,9

e sull'allungamento dei tubi promicelici

Prove	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.
Controllo	27	27	348	188	156	174	174	236	283	292	186	186
Ag 800 p.	60	235	304	136	126	132	198	312	314	210	216	198

Prove	XIII.	XIV.	XV.	XVI.	XVII.	XVIII.	XX.	XXI.	XXII.	XXIII.	Media
Controllo	219	289	345	450	695	355	492	366	588	222	287
Ag 800 p.	348	348	414	570	740	396	480	402	540	222	313

TABELLA IX.

Effetti dell'Ag 800 t. sulla percentuale di germinazione

Prove	XX.	XXI.	XXII.	XXIII.	XXV.	Media
Controllo	98,6	86,5	96,2	69,5	89,2	88
Ag 800 t.	94,9	26,8	86,8	56,4	67,7	66,5

e sull'allungamento dei tubi promicelici

Prove	XX.	XXI.	XXII.	XXIII.	XXV.	Media
Controllo	492	366	588	222	690	472
Ag 800 t.	324	216	354	156	468	304

Rilievo dei risultati.

Dall' esame delle numerose tabelle riportate si rileva genericamente che, *all' infuori dell' Ag a 800 p., tutti gli altri metalli hanno manifestato un' azione deprimente*, talora forte come nel *Pb*, talora invece *lievissima*, e forse anche *dubbia*, come nell' *Au* nel *Pt* e nell' *Ag a 1000*.

Ma, analizzando più dettagliatamente i risultati ottenuti, i più importanti rilievi che si devono fare sull' *azione a distanza* esercitata da ciascun metallo sulla germinazione del fungo in parola — secondo l'ordine decrescente di depressività dei metalli — sono i seguenti.

1) *Il Pb si è manifestato sempre fortemente deprimente e ritardatore sullo sviluppo della Thielavia coltivata in brodo*, in quanto ne ha ridotto moltissimo la percentuale di ger-

minaziane e la lunghezza dei tubi promicelici (vedi la tabella I e le fig. 3 e 4).

2) Il *Cu* — che esaminando le singole tabelle sembra offrire frequenti discordanze nel suo effetto sulla *Thielavia* — appare tuttavia come *deprimente* a chi osservi bene la tabella II, riportante tutte le medie delle singole prove. Infatti è vero che nelle prove singole si notano preparati con *Cu* che presentano valori simili ed anche superiori ai controlli, ma d'altra parte si osserva che nei *valori medi il Cu*, tanto nelle percentuali di germinazioni che negli allungamenti, *rimane sempre al disotto dei rispettivi controlli*, talchè le *medie finali* hanno un valore *notevolmente inferiore* ai controlli stessi.

Il *Cu* pertanto, considerando nel loro insieme le varie prove, può *giustamente* ritenersi *prevalentemente deprimente* sullo sviluppo del fungo coltivato in brodo. Si tratta di un effetto leggero e non certo paragonabile, nè per costanza nè per intensità, a quello del *Pb*, ma tuttavia accertato.

3) Per l'*Al* si potrebbero ripetere in parte le osservazioni fatte ora a proposito degli effetti esercitati dal *Cu*, soltanto è da osservare che *la sua azione deprimente è meno costante e meno netta di quella del Cu*. Ce lo dice anche un rapido sguardo alla tabella III, dalla quale appare chiaramente che il valore medio delle percentuali di germinazione dei preparati con *Al* ha superato *3 volte*, su 12, il valore medio dei rispettivi controlli; mentre il valore medio degli allungamenti (nei preparati con *Al*) ha superato *una volta* soltanto quello dei controlli.

4) Segue il *Pb paraffinato* che ha dimostrato ancora una *lieve azione deprimente*, per quanto questa volta si sia verificata l'*inversione* dei valori — a favore del *Pb paraffinato* — *3 volte* nelle medie delle percentuali di germinazioni e *4 volte* in quelle degli allungamenti (v. tabella IV).

Si deve dunque constatare che il *velo di paraffina ha attenuato moltissimo la forte depressività biologica del metallo*; anzi qualche volta esso ha addirittura *invertito* quest'ordine di valori facendoli passare, si noti bene, dalla azione *deprimente* a quella *eccitatrice*.

La principale ragione della scarsa uniformità di risultati ottenuti con *Pb paraffinato* — per quanto tali risultati siano sempre stati rivolti in uno stesso senso, quello cioè di attenuare più o meno l'azione deprimente del *Pb* nudo — è verosimilmente da ricercarsi nella *diversità di spessore* dello straterello di paraffina avvolgente il metallo. Infatti le spirali di *Pb* che erano state immerse in paraffina calda e liquida, essendosi rivestite di uno straterello *assai sottile* di paraffina, hanno dato effetti ancora *nettamente deprimenti*, sebbene attenuati sempre rispetto al controllo; invece le spirali immerse in paraffina un poco raffreddata, e perciò più densa, essendosi rivestite di uno strato più *spesso* di paraffina, hanno *inattivato* quasi completamente l'*azione deprimente* del metallo e qualche volta, come s'è visto, hanno dato anche *effetti eccitanti* ⁽¹⁾.

Questi fatti ci mettono sulla strada della identificazione della causa fisica inducente gli effetti biologici rile-

(1) Un rilievo di quest'ordine era stato già fatto da RIVERA per germogli di piante superiori allevate sotto campane metalliche (v. Rendic. R. Acc. Naz. dei Lincei, vol. XIX fasc. 6, pag. 435); in questo caso si otteneva un inizio di sviluppo dei germogli notevolmente più rapido sotto campane di Cu internamente spalmate di un sottile strato di paraffina, di quello che non fosse l'accrescimento sotto le stesse campane non paraffinate, salvo a invertirsi i risultati con il crescere della pianta.

Dunque l'attenuazione della influenza biologica negativa del metallo con la paraffina è un fatto generale constatabile tanto sopra piante superiori che sopra vegetali inferiori e che riguarda più di un metallo.

vati; ed intanto avvalorano l'opinione di chi pensa che le azioni a distanza manifestate da alcuni metalli siano da riportarsi ad una loro *capacità radiante* e, verosimilmente, alla emissione di *radiazioni secondarie di tipo corpuscolare*: queste radiazioni verrebbero trattenute dalla paraffina in tanto maggiore quantità quanto più spesso ne sia lo strato avvolgente il metallo. Alla luce di questa teoria non è dunque difficile spiegarsi il graduale passaggio dagli *effetti deprimenti* a quelli *eccitanti* di uno stesso *metallo paraffinato*, ammettendo, come ho accennato fin da principio, che anche per questo tipo di radiazioni vi siano *dosi forti* e perciò *deprimenti*, e *dosi debolissime* (quelle, ad esempio, lasciate passare da uno strato uniforme di paraffina di poco più di $\frac{1}{2}$ mm.) che sarebbero invece *eccitanti*.

5) Seguono il *Pt*, l'*Ag* a 1000 e l'*Au* che, come si vede dalle rispettive tabelle (V-VI-VII), hanno dimostrato un *effetto deprimente tenuissimo* e appena appariscente sulla percentuale di germinazione, mentre si sono dimostrati più *nettamente e uniformemente deprimenti* sugli allungamenti dei tubi promicelici.

Certo questi effetti, seppure risultanti da un numero di prove e di preparati tutt'altro che trascurabile, lasciano tuttavia perplessi quando ci si accinge a volerli definire e qualificare, nè sembra che un maggior numero di prove potrebbe dare maggior lume per tale giudizio, perchè ci troviamo evidentemente di fronte a fenomeni così attenuati che basta un nonnulla, che ci sfugge, per mascherarli od anche addirittura capovolgerli.

Si hanno infatti quasi costantemente, nelle singole prove, preparati in cui i metalli si mostrano, rispetto ai controlli, nettamente *deprimenti*, ed altri invece in cui gli stessi metalli si mostrano *indifferenti* o anche *leggermente eccitanti*. Ora, poichè anche i vari controlli, in seno ad

una stessa prova, mostrano spesso fra loro *differenze notevoli*, si sarebbe indotti a pensare che gli effetti singoli mostrati dai suddetti metalli fossero puramente casuali; d'altra parte se si guardano i risultati nel loro complesso e soprattutto se si considerano i numeri delle medie finali — specialmente quelli riguardanti l'effetto sugli allungamenti promicelici — non si può negare che una certa *azione deprimente*, sebbene molto leggera, ci sia stata anche per parte di questi 3 metalli.

6) E passiamo infine ad esaminare il comportamento — veramente, sotto certi aspetti, un poco sibillino — dell'*Ag a 800* sullo sviluppo del solito fungo.

Appare anzitutto evidente la netta differenza esistente tra gli effetti esercitati dall'*Ag a 800 p.* — che, come abbiamo già rilevato, appaiono, nel complesso delle prove e nelle medie finali, *leggermente eccitanti* — e quelli esercitati dall'*Ag a 800 t.*, che invece sembrano essere *nettamente deprimenti*, sia nelle medie generali, che nei dati singoli (ad eccezione di uno) di ciascun preparato delle cinque prove eseguite (v. le prove XX-XXI-XXII-XXIII-XXV).

Si deve però osservare che lo scarso numero di prove eseguite con *Ag a 800 t.* non permette di stabilire decisamente la sua capacità depressiva nei riguardi dello sviluppo del fungo in parola.

Da che cosa potrà dipendere tale differenza nel comportamento di uno stesso metallo o di un stessa lega? Dalla differenza di forma delle spirali usate? Dalle piccole inevitabili differenze nella lega? Dalla differente provenienza dei due metalli legati? La prima spiegazione sembrerebbe la più soddisfacente, ma non si possono per ora escludere nemmeno le altre due; soltanto una ulteriore e più abbondante sperimentazione potrebbe meglio chiarire questi interrogativi.

Comunque sembra risultare con evidenza, da quanto precede, che per uno stesso organismo esistono metalli o leghe metalliche capaci, in condizioni sperimentali identiche, di influenzarne lo sviluppo con intensità assai diverse da metallo a metallo, tanto che si può gradualmente passare dalla più forte depressione fino anche alla lieve eccitazione. In questo gioco di effetti ha però grande importanza, come meglio si vedrà in seguito, la natura del substrato nutritizio.

7) Dalle prove che portano i preparati *numerati* (cioè dalla 9^a alla 17^a, esclusa la 16^a) si rileva che il variare della distanza del metallo da meno di 1 mm. a 2 mm., non mostra avere un' influenza apprezzabile sullo sviluppo della *Thielavia*; tant'è vero che, osservando i dati singoli delle suddette prove, si nota che i diversi preparati numerati di uno stesso metallo non hanno manifestato alcun *rapporto costante* di sviluppo tra loro; infatti se, ad esempio, in una prova il preparato n. 3 di un certo metallo ha dato maggiore sviluppo del preparato n. 2 dello stesso metallo, in un'altra prova vediamo essersi verificato addirittura il contrario.

8) Da tutto quanto è stato esposto si rileva infine come non apparisca esservi correlazione tra l'azione a distanza esercitata dai vari metalli sullo sviluppo della *Thielavia basicola* coltivata in brodo e il *peso atomico* dei metalli stessi. Ciò peraltro non esclude che, sperimentando con altri organismi ed altri substrati, tale correlazione possa invece trovarsi; gli effetti osservati sulla *Thielavia* stanno intanto a dimostrare che *la correlazione tra intensità di effetti a distanza e peso atomico dei metalli non è un fatto generale*.

*
* *

Dopo aver così analizzato ciò che nelle prime 24-48 ore dalla loro preparazione, si verifica, in confronto ai rispettivi controlli, nei preparati *in brodo* con i vari metalli a distanza, vediamo ora che cosa *successivamente* si venga a rilevare nei preparati stessi lasciandoli sviluppare ancora per qualche tempo.

Notiamo subito che mentre nei preparati contenenti *Au*, *Pt*, *Ag a 1000*, *Ag a 800*, *Cu*, *Al*, e *Pb paraffinato* gli effetti sembrano ben presto scomparire fino ad ottenersi sviluppi praticamente uguali ai controlli, solamente nei preparati con *Pb* tali effetti permangono producendo sul fungo fenomeni di un certo interesse.

Anzitutto nei preparati contenenti *Pb* le germinazioni avvengono di solito con un ritardo di 1-3 giorni rispetto ai controlli; il più delle volte, esse hanno luogo solo in corrispondenza di piccole riunioni di spore (generalmente 5-6) e prendono subito un aspetto molto differente dalle germinazioni che si osservano nei controlli e nei preparati dove sono presenti gli altri metalli: infatti le spore che si trovano in presenza di *Pb* non germinano quasi mai per tubi promicelici lunghi e generalmente diritti, che poi si anastomizzano e generano grande numero dei conidi — come avviene nei controlli e negli altri preparati — ma danno luogo a *tubi promicelici piuttosto corti, contorti*, i quali ramificano abbondantemente e si espandono in senso *radiale*, sì da assumere un aspetto stellato « *a rosetta* », come si vede nella fig. 6. Inoltre nei preparati con *Pb* non si producono *mai conidi*, ma soltanto *clamidospore*, mentre nei controlli sono numerosissimi quelli e più rare queste (fig. 9).

Più spesso però i complessi « *a rosetta* » hanno origine dalla germinazione delle clamidospore che passano

nella sospensione di conidi attraversando la tela con cui tale sospensione viene filtrata prima di essere disseminata nei preparati; le clamidospore della *Thielavia* hanno infatti, rispetto ai conidi, una *resistenza* assai più marcata all'azione ritardatrice del *Pb* e, in presenza delle spirali del suddetto metallo, riescono a svilupparsi assai prima, generando *piccoli ciuffi di micelio assai ramificato*.

Una volta formate le *rosette di micelio*, cioè dopo circa 6-8 giorni ⁽¹⁾ dall'inizio delle germinazioni, cominciano in genere a presentarsi — nel micelio delle rosette stesse così come, e specialmente, nel micelio originatosi dalle spore che germinano isolatamente — tanti piccoli *rigonfiamenti* che vanno man man aumentando (v. fig. 7, 8 e 9) e danno al micelio stesso un aspetto del tutto *irregolare* e profondamente diverso da quello che si sviluppa nei controlli e nei preparati con altri metalli, dove, come s'è detto, il micelio è sempre piuttosto regolare ed isodimetrico. Nel contempo le *rosette* ed i *piccoli ciuffi* di micelio generano abbondante numero di *clamidospore*.

*
* *

Dopo avere osservato i fatti sopra descritti si è voluto vedere se, *togliendo il Pb* da preparati che avevano appena iniziato la germinazione, permanessero nella struttura del micelio le modificazioni descritte e se il ritmo di sviluppo del fungo subisse variazioni.

(1) Quanto all'epoca in cui i rigonfiamenti cominciano a manifestarsi nel micelio che si sviluppa in presenza di *Pb*, non si può dire nulla di preciso. S'è detto che tali trasformazioni appaiono, in genere, dopo 6-8 giorni dall'inizio delle germinazioni, *ma questo periodo non è fisso*, perchè vi sono preparati in cui le modificazioni si iniziano prima e preparati dove invece si manifestano soltanto parecchi giorni dopo.

Perciò è stata fatta una serie di 13 preparati in goccia pendente di brodo di carne, in 10 dei quali sono state messe le soliti spirali di *Pb*, mentre gli altri 3 sono stati lasciati come controlli.

Dopo 2 giorni — mentre i controlli erano germinati, in media, per circa il 92 %, con lunghezze dei tubi promicelici che raggiungevano anche i 500 μ — i preparati con *Pb* presentavano, come di solito, germinazioni che appena raggiungevano il 3-4 % e allungamenti massimi di 85 μ soltanto.

A questo punto sono stati aperti 5 dei preparati con *Pb* ed è loro stato *tolto* il metallo; negli altri 5 il *Pb* è stato lasciato, ma anche questi ultimi sono stati aperti e poi rinchiusi nuovamente al fine di mantenere identiche le altre condizioni sperimentali fra i due gruppi di preparati. Dopo 2 giorni da questa operazione i preparati dove era stato tolto il *Pb* erano germinati per circa il 75 % con allungamenti che raggiungevano anche, in qualche caso, i 480 μ , mentre nei preparati in cui il *Pb* era stato lasciato la percentuale di germinazione era appena del 15-16 % e gli allungamenti promicelici non superavano i 150 μ .

Seguendo ulteriormente lo sviluppo di questi due gruppi di preparati si è rilevato che quelli in cui era stato tolto il *Pb* — dopo un improvviso e *rapido* accrescimento, effettuati nei primi 2-3 giorni da ch  era stato tolto il metallo — erano rimasti stazionari, anzi in essi il micelio si era ben presto *plasmolizzato* ed, in seguito, alterato profondamente; nei preparati invece dove il *Pb* era stato lasciato, l'accrescimento era stato molto pi  *lento*, ma a poco per volta — sebbene assumendo il suo aspetto caratteristico a *rigonfianti*, che   stato sopra descritto — esso aveva raggiunto il grado di svi-

luppo dei preparati dove il *Pb* era stato tolto e, per di più, era rimasto *turgido* e *vitale* per un tempo assai più lungo generando nel contempo numerose clamidospore.

Per quanto riguarda lo sviluppo raggiunto dai preparati dove era stato tolto il *Pb*, aggiungerò che esso è stato notevolmente inferiore a quello raggiunto dai controlli, ma è però stato del tutto simile ad essi sia nell'aspetto del micelio che nella sua capacità a produrre numerosi conidi. La ragione di questo minore sviluppo è molto verosimilmente da cercarsi nell'effetto deprimente esercitato dal *Pb* sulla vitalità del fungo, più che nei due giorni di ritardo dell'inizio di sviluppo rispetto ai controlli, tant'è vero che, come s'è detto ora, il micelio è durato meno che nei controlli stessi e si è presto plasmolizzato.

La prova ora descritta è stata ripetuta altre 2 volte sempre con risultati analoghi. È soltanto da osservare che in una di queste prove la degenerazione del micelio, nei preparati dove era stato tolto il *Pb*, non è stata così rapida come nel caso precedente, in quanto il micelio — pure essendosi sviluppato rapidamente non appena era stato tolto il *Pb* dai preparati — è durato per più di 40 giorni turgido e vitale, e soltanto dopo circa 45 giorni ha degenerato improvvisamente. Comunque, tanto i preparati dove il *Pb* era rimasto quanto i controlli, hanno durato anche questa volta vitali e in buono stato per più tempo che quelli dove il *Pb* era stato tolto. Anzi nei preparati dove il *Pb* era stato lasciato il micelio era bensì profondamente trasformato e sfigurato per la formazione di *rigonfiamenti molto pronunciati* (v. fig. 8), ma esso si conservava tuttora turgido e vitale; prova ne sia che, essendo stato aperto — al 57° giorno della sua preparazione — uno dei preparati contenenti *Pb* ed essendone stato trasportato l'irregolare micelio in un altro preparato a goccia pen-

dente di brodo fresco, - dopo 2 giorni (da questa operazione) già erano scomparsi i rigonfiamenti ed il micelio appariva come *disteso*, quasi avesse assunto il suo aspetto normale; inoltre esso si sviluppava attivamente e, dopo altri 3-4 giorni, aveva generato un'abbondante numero di conidi.

Il fungo dunque, non soltanto era rimasto vivo e ben conservato, ma aveva *perduto* quasi completamente quell'*aspetto caratteristico* che esso assume quando si sviluppa in presenza di *Pb*, dimostrando così che tale trasformazione non è affatto stabile, ma è invece stretta conseguenza dello sviluppo del fungo in brodo alla presenza di *Pb*; infatti essa si perde non appena venga a mancare la condizione di anormalità rappresentata dalla presenza del *Pb*.

Influenza della forma e della provenienza del piombo.

Prima di chiudere questo capitolo dell'azione a distanza del *Pb* sullo sviluppo della *Thielavia* in brodocultura, accennerò ancora ad alcune esperienze che hanno messo in evidenza come la *provenienza* e forse anche la *forma* delle spirali di *Pb* usate, abbiano un'influenza, ora più ora meno marcata, sull'efficacia del metallo stesso nei riguardi del solito fungo in brodocultura.

Ho provato ad usare, al posto delle solite spirali di filo di *Pb*, altre spirali fatte con una sottile *striscia* ritagliata da una *lastra* di *Pb* ed ho riscontrato più volte che esse hanno dimostrato, sul fungo in brodocultura, un *effetto più forte* ancora di quello esercitato dal *filo* di *Pb* usato fino allora; infatti dette spirali non soltanto non hanno permesso quasi mai, nelle varie esperienze fatte, la germinazione dei conidi di *Thielavia* finchè questi si trovavano in loro presenza, ma anzi esse hanno inibito

la germinazione anche alle clamidospore, che pure, in presenza delle spirali di filo di *Pb*, avevano quasi sempre germinato.

A questo proposito può essere opportuno riferire quanto ho potuto osservare su due dei soliti preparati a goccia pendente, ciascuno dei quali conteneva una spirale di *Pb* ritagliata dalla *lastra*.

Questi due preparati furono fatti, insieme con altri, il 26-v-34 con le solite modalità precedentemente descritte e poi tenuti a 25° C. Il 4-vi i due preparati con *Pb* ritagliato dalla *lastra* non avevano ancora germinato, mentre altri preparati fatti lo stesso giorno, col solito *Pb* in filo, non solo avevano già germinato, ma avevano anche formato le caratteristiche *rosette* ed iniziato la sporificazione per clamidospore; allora da uno dei due preparati suddetti — che chiameremo (1) — fu *tolto* il *Pb*; nell'altro — che chiameremo (2) — il *Pb* fu lasciato. Il 6-vi mentre il preparato (2) era rimasto invariato, l'(1) aveva prodotto micelio ben sviluppato e normale, sebbene notevolmente meno abbondante che nei controlli, i quali del resto avevano iniziato il loro sviluppo 10 giorni prima. Il 14-vi il preparato (2) non era ancora affatto germinato, pur tuttavia le spore vi si conservavano turgide ed apparentemente in buone condizioni, perciò si è voluto provare a *togliere* il *Pb* anche da questo preparato; lo stesso giorno, nei preparati con filo di *Pb*, il micelio aveva già subito profonde trasformazioni generando i caratteristici *rigonfiamenti* ed un notevole numero di clamidospore, mentre nel preparato (1) esso si presentava regolare ed aveva pressochè raggiunto lo sviluppo del controllo, producendo inoltre numerosi conidi. Il 17-vi nel preparato (2) si iniziavano alcune germinazioni con micelio normale, ma piuttosto esile, *contorto* e formante numerose *anse*; i tubi

promicelici raggiungevano pressochè i 120 μ . Il 20-VI le germinazioni del preparato (2) erano aumentate e i tubi promicelici si erano allungati molto, pur conservandosi contorti e come tendenti a raggomitolarsi (v. fig. 10), strano effetto questo, prodotto dalla lunga permanenza in presenza di *Pb*. Il 23-IV il micelio del preparato (2) cominciava a plasmolizzarsi e ad alterarsi, mentre quello del preparato (1), dopo aver dato origine a gran numero di conidi, si conservava ancora in stato abbastanza buono e si presentava sempre molto simile al controllo. Il 25-IV nel preparato (2) il micelio era pressochè completamente alterato ed in buona parte disintegrato; l'(1) invece, si presentava ancora discretamente in buono stato.

Queste prove sono state ripetute altre tre volte e, per quanto riguarda la *maggiore depressività* del *Pb* ritagliato dalla *lastra* in confronto a quello in filo, i risultati sono stati *riconfermati*, tanto che di 10 preparati, fatti in diverse riprese, uno solo ha permesso, sebbene molto scarsamente, la germinazione.

Per quanto invece riguarda la resistenza dei conidi non germinati alla prolungata azione del *Pb* ritagliato dalla *lastra*, non ho potuto più riscontrare i fatti osservati nei due preparati dei quali è stata fatta poco sopra la storia, perchè, togliendo il *Pb* da quattro fra i preparati di questa seconda serie — dopo 8-15-18-20 giorni dalla loro preparazione — non ho più riscontrato le germinazioni che si erano notate nei primi due. Perciò a questo proposito — riservandomi di continuare in seguito la sperimentazione — devo concludere che, in genere, i conidi che avevano subito per 8-10 giorni consecutivi l'azione del *Pb* ritagliato dalla *lastra*, hanno perduto la loro germinabilità e sono morti, e che in qualche caso soltanto alcuni di essi hanno resistito, per un tempo anche notevolmente più lungo, al-

l'azione suddetta senza degenerare, ma rimanendo vivi e germinando solo quando l'azione stessa era venuta a mancare. Tali spore subiscono però un affievolimento graduale della loro vitalità tantochè, se si toglie il *Pb* dal preparato, esse, sebbene stentatamente germinino, dopo circa una settimana (dacchè si è iniziata la germinazione) *degenerano* e muoiono rapidamente.

Comunque, con la scorta di questi esperimenti, si può ritenere con fondamento che il *Pb ritagliato dalla lastra è stato più fortemente deprimente che il filo di Pb* usato nelle precedenti prove. Ora poichè le strisce di *Pb* ritagliate dalla lastra erano diverse dal filo di *Pb* sia per la diversa provenienza del metallo stesso, sia per la *forma piatta* delle strisce in confronto alla *forma rotonda* del filo, non era possibile decidere a quale di queste due differenze dovesse imputarsi la maggiore efficacia delle *strisce* in confronto del *filo*. Onde, per scindere questi due fatti, ho provato a schiacciare il filo di *Pb* in modo da renderlo di forma pressochè uguale alle strisce ritagliate dalla lastra, e poi ne ho fatto alcune spirali, al fine di vedere se questa differenza di *forma* avesse un'influenza notevole nell'aumentare l'efficacia del metallo sullo sviluppo della *Thielavia*.

Allestiti alcune serie dei soliti preparati, ho potuto riscontrare che, generalmente, le spirali di filo schiacciato avevano un effetto opposto a quello che mi aspettavo; infatti il *filo appiattito*, anzichè intensificare l'efficacia deprimente del filo rotondo, la diminuiva — seppure molto leggermente — permettendo alle spore di *Thielavia* uno sviluppo un poco più rapido ed abbondante di quello consentito dal filo rotondo. La leggera *attenuazione* dell'efficacia deprimente del filo appiattito in confronto del filo tondo, non è un fenomeno costante, ma in ogni modo

questo fatto — mentre da un lato ci rende propensi a credere che la maggiore efficacia deprimente delle strisce di *Pb* tagliate dalla lastra, in confronto al filo, sia dovuta alla diversa *provenienza* del metallo o forse anche al *taglio fresco* subito dal *Pb* nell'essere ridotto in strisce — ci permette d'altra parte di osservare, ricollegandoci a quanto è stato riferito a proposito dell' *Ag a 800*, che le *forme piatte* tanto dell' *Ag a 800* che del *Pb*, hanno generalmente consentito, in confronto alle rispettive *forme tonde*, un *maggiore sviluppo* delle spore di *Thielavia*.

Da tutto questo complesso di prove — che sono state condotte dall'aprile al giugno 1934 — emerge pertanto che il *Pb* a distanza di 1-2 cm. non è, generalmente, *letale* sui conidi di *Thielavia* allevati in brodocultura, ma di solito agisce soltanto *ritardandone* più o meno fortemente lo sviluppo o addirittura *inibendolo*, a seconda della *provenienza* del metallo e della sua forma.

Anzi, per essere più esatti, dobbiamo dividere le spore suddette in *due gruppi* principali a seconda della loro maggiore o minore *sensibilità individuale* all'azione del *Pb*. Infatti sul *primo gruppo* di spore, le più sensibili ed anche le più numerose, l'azione del metallo *dapprima inibente e poi addirittura letale*; sul *secondo gruppo* composto dalle spore che riescono a germinare e a svilupparsi più o meno abbondantemente, l'azione suddetta è soltanto, in genere, più o meno fortemente *ritardatrice* dello sviluppo e, solo per determinate *qualità* di *Pb*, essa è *inibitrice* e dopo qualche tempo diviene letale ⁽¹⁾.

(1) L'azione *letale* del *Pb* può, a mio giudizio espletarsi in due diversi modi; 1) in modo *diretto*, cioè, come s'è detto, per il graduale e continuato effetto inibente esercitato dal metallo in se stesso (o per

Su questo secondo gruppo di spore meno sensibili l'azione del *Pb*, oltre ad essere sempre *rallentatrice* del ritmo di sviluppo, è anche caratteristicamente *modificatrice* della *forma del micelio* e, come si vedrà in seguito, anche della sua *capacità di assimilazione*. Sembra inoltre che tale azione influisca altresì sul fungo prolungandone notevolmente la vitalità, e ciò del resto appare logico se si consideri come una conseguenza del rallentamento del ritmo di sviluppo, che deve perciò completarsi in un tempo più lungo. Infatti quando si toglie il *Pb* dai preparati che non hanno ancora iniziato il loro sviluppo o lo hanno iniziato appena, si provoca una improvvisa e piuttosto rapida crescita del fungo a cui, generalmente, tien dietro una *degenerazione improvvisa*.

La spiegazione di quest'ultimo fatto sembra dover essere la seguente: se il micelio fungino — dopo avere per un certo tempo subito l'inibizione all'accrescimento per l'influenza del *Pb*, tanto da poter essere quasi considerato come *abituato* e tale fattore ritardatore della crescita — è riportato improvvisamente in ambiente normale (dove cioè

mezzo delle sue radiazioni secondarie) sui conidi, effetto che dopo qualche tempo finisce per devitalizzare i conidi a lui sottoposti; 2) in modo *indiretto*, in quanto il *Pb* può non uccidere direttamente le spore, ma, con l'inibirne completamente lo sviluppo, fa sì che restino per diverso tempo immerse nel substrato liquido in uno stato di vita latente, la quale si attenua gradualmente, per il continuo contatto col substrato, e cessa poi con la morte delle spore stesse. Non è facile dunque poter dire a quale di queste due azioni sia da ascrivere l'azione letale esercitata dal *Pb*; probabilmente i due effetti, diretto e indiretto, interferiscono e si sommano cooperando entrambi alla devitalizzazione delle spore; ma appare però evidente come l'*azione diretta*, essendo la causa *inducente* del fenomeno, sia anche la *causa principale* del fenomeno stesso, mentre l'*azione indiretta* sarebbe successiva e perciò, a mio parere, *secondaria*.

manchi tale fattore ritardatore) esso, a causa di un così rapido cambiamento, viene a trovarsi in uno *squilibrio di crescita* che gli nuoce, in quanto questo nuovo ritmo di crescita è eccessivo in rapporto alla modesta velocità di accrescimento a cui il micelio si era ormai abituato, sì che esso finisce per divenire la causa della più o meno rapida degenerazione del fungo.

Influenza del substrato sui fenomeni osservati.

A questo punto dello studio era logico pensare alla possibilità che anche il substrato alimentare avesse la sua parte nella complessa azione esercitata sul fungo dai metalli presi in considerazione, e specialmente dal *Pb*.

Perciò è stata impiantata una prova con lo stesso sistema già descritto per le 23 prove sopra riportate sostituendo questa volta nei preparati il solito brodo di carne con succo di foglie di tabacco filtrato per candela.

Ecco i risultati della 24^a prova (v. tabella a pagina seguente).

Pur riservandomi di ripetere ulteriormente le prove, al fine di poter disporre di risultati più certi, mi sembra tuttavia che, con la scorta della prova riportata, si possa fin d'ora adombrare il seguente enunciato: che cioè tutti i metalli — all'infuori dell' *Ag a 800 p.* che ha dato, anche in queste condizioni, una leggera eccitazione — si sono mostrati più o meno nettamente deprimenti sul controllo.

Anche l' *Au*, il *Pt* e l' *Ag a 1000*, che nelle colture in brodo avevano dimostrato un'azione deprimente lievissima, in succo di tabacco filtrato hanno mostrato un'azione, depressiva piuttosto energica, specie gli ultimi due.

24^a Prova.

Preparati fatti il 15-VI-1934 dalle ore 18 alle 20, con conidi disseminati in gocce di succo di foglie di tabacco filtrato per candela.

I preparati sono stati tenuti a 25° C. Per entrambi i gruppi sono stati osservati gli allungamenti il 16-VI dalle ore 8,30 alle 10,15 e le percentuali di germinazione dalle ore 10,30 alle 13,20 dello stesso giorno.

Trattamento	N.° delle spore contate	N.° delle spore germinate	Percentuale di germinazione	Lungh. massima dei tubi prom. in μ	Osservazioni	
<i>I gruppo</i>					Per ogni preparato sono stati presi in considerazione 5 diversi campi microscopici.	
Controllo	146	93	63,7	204		
Pb p.	123	8	6,5	156		
Pb t.	138	4	2,9	84		
Au	109	55	50,4	132		
Al	99	29	29,3	108		
Cu	123	32	26	84		
Pt	229	104	45,4	144		
Ag 800 t.	146	91	62,3	132		
Ag 800 p.	219	172	78,5	216		
Pb p. paraff.	158	78	49,3	120		
Ag 1000	147	46	31,3	180		
Controllo	85	62	72,9	204	Medie dei preparati	
					Percentuale di germinazione	Allungamenti promicelici
<i>II gruppo</i>						
Ag 1000	108	3	2,8	60	17	120
Pb p. paraff.	170	126	74,1	240	61,7	180
Ag 800 t.	190	123	64,7	204	85	288
Ag 800 p.	141	129	91,5	360	63,5	168
Pt	—	—	—	—	22,7	72
Cu	134	102	76,1	240	51,1	162
Al	124	104	83,8	240	56,5	174
Au	121	38	31,4	108	40,9	140
Pb t.	109	40	36,7	192	19,8	138
Pb p.	258	35	13,5	300	10	228
Controllo	125	107	85,6	384	74,1	264

Ma mi sono limitato per ora a studiare un poco più a fondo quello, fra i risultati della prova fatta, che è apparso più interessante; ed è che il *Pb* non ha avuto, specie sull'allungamento dei tubi promicelici, il forte effetto depressivo e ritardatore che ha sempre manifestato nelle prove precedenti, in cui il substrato nutritizio era costituito da brodo di carne; tant'è vero che, per quanto riguarda l'allungamento dei tubi promicelici, esso neppure è stato fra i più depressivi dei vari metalli usati.

Perciò, al fine di accertarmi che il fenomeno si ripetesse costantemente, ho rifatto varie volte le prove con conidi disseminati in succo di tabacco ed esposti all'azione del *Pb*. I risultati sono stati sempre dello stesso ordine di quelli riscontrati nella 24^a prova, ed anzi ancor più accentuati, in quanto il *Pb* ha permesso quasi sempre più alte percentuali di germinazione e, qualche volta, anche maggiori allungamenti promicelici di quelli che esso non avesse permesso nella 24^a. Si vedano a proposito le figure 2-3-4-5 che, meglio di qualunque numero, ci danno un'idea esatta del rapporto assai diverso intercorrente fra i preparati con *Pb* ed i rispettivi controlli, tanto nel caso delle colture in brodo, quanto in quello delle colture in succo di tabacco.

Altro fatto importante che distingue il diverso comportamento di questi due substrati è che, mentre le brodculture di *Thielavia* — in presenza di *Pb* — non producono quasi mai conidi, le colture di questo stesso fungo in succo di tabacco, pur essendo in presenza del metallo, generano invece un numero di conidi pressochè equivalente a quello dei controlli.

Seguendo per qualche tempo i preparati con *Pb*, non si vedono mai comparire nel micelio allevato in succo di tabacco i caratteristici rigonfiamenti che compaiono nelle

brodoculture; però, nelle colture in succo di tabacco, il micelio si presenta fortemente *vacuolizzato* tanto nei controlli che nei preparati con *Pb*, tuttavia in questi ultimi la vacuolizzazione è un poco più marcata.

Da tutto ciò resta dunque sufficientemente dimostrato che anche il *substrato nutritizio* ha un'importanza *notevolissima* nell'esaltare o nel mascherare l'azione rallentatrice del *Pb* a distanza.

Orbene questo fatto ci porta a pensare che l'effetto a distanza del *Pb* sopra la *Thielavia* possa esplicarsi, più che altro, ostacolando la capacità, da parte del fungo, di *assimilare* alcuni determinati composti contenuti in certi substrati alimentari; di modo che se un substrato nutritizio è ricco di composti, sulla cui assimilazione il *Pb* agisce sfavorevolmente, allora si manifesta l'azione rallentatrice o addirittura inibitrice del metallo; se invece il substrato contiene in gran parte composti sulla cui assimilazione il *Pb* non ha influenza notevole, l'azione rallentatrice del metallo stesso si attenua più o meno notevolmente, fino quasi a scomparire.

D'altra parte a questa prima ipotesi potrebbe esserne sostituita una seconda: e cioè che in alcuni substrati siano contenute sostanze capaci di mascherare l'azione a distanza del *Pb*.

Finalmente potrebbe ammettersi che il *Pb* possa agire solo quando il micelio e le spore si trovino in difettoso ambiente nutritivo, in cui manchino, ad esempio, sostanze fondamentali per quella determinata specie fungina.

E poichè la prima ipotesi sembra la più fondata, sono oggi in corso ricerche allo scopo di identificare gli eventuali composti sulla cui assimilabilità il *Pb* avrebbe effetto sfavorevole e per studiare inoltre se e quali sostanze siano in difetto nel brodo a confronto del succo della pianta normalmente parassitata.

Per ora è stata provata l'efficacia del *Pb* sulle spore di *Thielavia* disseminate tanto in acqua comune, che in soluzioni di *glicocollo* e di *saccarosio* al 2 0/0, unite insieme nel rapporto di 1,5 della prima e 3,5 del secondo.

In ripetute prove si è riscontrato che anche con questi substrati il *Pb* ha avuto sempre — senza arrivare all'intensità depressiva manifestata nelle brodoculture — effetto nettamente *deprimente*, specie nel caso della soluzione di *saccarosio* e *glicocollo*.

Si può dunque dire che l'azione rallentatrice manifestata dal *Pb* a distanza sulle spore di *Thielavia* sia stata *massima* quando il fungo è stato seminato in brodo, *intermedia* — ma più vicina alla massima che alla minima — quando esso è stato seminato in acqua comune o in soluzione di *saccarosio* e *glicocollo*, *minima* — per quanto sempre notevole — quando è stato seminato in succo di foglie di tabacco filtrato per candela.

Potrebbe dunque pensarsi che l'assimilazione del *saccarosio* e della *glicocollo* sia notevolmente ostacolata dall'azione del *Pb* (1).

Comunque traspare fin d'ora con una certa evidenza che al *Pb* si deve attribuire un'azione diretta, più o meno marcata, su *tutte le funzioni* della cellula fungina (*Thielavia*) e non soltanto sulla sua funzione di assimilazione; infatti la sua azione apparisce nettamente efficace anche sulle spore tenute in acqua comune, e poiché in questo caso la funzione assimilatrice delle spore in sviluppo deve necessariamente essere ridottissima (come del resto risulta

(1) Mi propongo ora di provare, sotto l'influenza del *Pb*, l'assimilabilità di altri vari composti organici — specialmente azotati e idrocarbonati — aggiungendoli uno per uno ad una soluzione nutritizia che consenta lo sviluppo della *Thielavia*, soluzione che dovrebbe servire di *base* allo studio.

dai modesti allungamenti dei tubi promicelici, che si presentano inoltre striminziti e contorti anche nei preparati con sola acqua e senza *Pb*), si può pensare che l'azione del *Pb* deve estendersi, con maggiore o minore intensità, a gran parte e forse a tutte le funzioni della cellula fungina.

A proposito delle culture di *Thielavia* in soluzione di saccarosio e glicocollo, un particolare degno di nota è che, contrariamente a quanto si verifica nelle brodoculture, la produzione di conidi si inizia in genere prima nei preparati con *Pb* — in cui però resta assai scarsa — e che soltanto dopo qualche giorno essa comincia anche nei controlli, dove invece gradualmente cresce fino a superare di molto i preparati con *Pb*.

Si noti inoltre che il micelio della *Thielavia*, coltivata nella soluzione suddetta, forma dei rigonfiamenti che assomigliano alquanto a quelli riscontrati nelle brodoculture in presenza di *Pb*, ma, per lo più, danno l'impressione di essere conidi ingrossati che siano poi rimasti solidamente attaccati fra loro in catenella; tali rigonfiamenti sono leggermente più marcati nei preparati con *Pb* che nei controlli, ma sono evidenti anche in questi.

E' infine da ricordare che il micelio si presenta fortemente vacuolizzato nei controlli, mentre lo è molto meno nei preparati con *Pb*.

Come sviluppo vegetativo i preparati con *Pb* si conservano molto al disotto dei relativi controlli.

Azione dei metalli per contatto e in soluzione.

Dopo aver studiato con un certo dettaglio l'azione a distanza dei metalli già ricordati, si è voluto anche studiare l'azione di contatto e l'azione ionica delle soluzioni. Ciò soprattutto allo scopo di mettere a raffronto fra loro queste diverse azioni degli stessi metalli sullo stesso or-

ganismo, e tentare di trarne considerazioni che potessero meglio illuminare il meccanismo dell' azione a distanza.

Azione per contatto. — Sono stati fatti preparati a goccia pendente di brodo di carne, in cui sono stati disseminati, col solito sistema descritto a pag. 3, conidi di *Thielavia* in sospensione omogenea; ciascun preparato conteneva inoltre, dispersa nella goccia stessa, *limatura fine* di uno dei metalli seguenti: *Pb*, *Ag*, *Au*, *Cu*, *Al*, *Pt*, *Ag a 800*.

La serie si componeva di 16 preparati: 2 per ogni metallo e 2 di controllo; tutta la serie è poi stata messa in termostato a 25° C per 24 ore circa.

Dopo 4 giorni dalla preparazione sono stati osservati i preparati con i risultati seguenti.

L' *Ag a 800*, il *Cu*, l' *Al* non hanno permesso la germinazione delle spore; queste si conservavano turgide ed apparentemente in buone condizioni nei preparati con *Cu*, mentre si mostravano più o meno plasmolizzate ed alterate in quelli con *Ag a 800* e con *Al*. Nelle gocce contenenti *Al* e *Cu* era evidente, ad occhio nudo, una specie di opalescenza che al microscopio appariva come una fine granulazione, probabilmente dovuta ad una parte dei metalli stessi passata in sospensione colloidale piuttosto grossolana; il *Cu* poi aveva addirittura colorato in azzurro gran parte della goccia. Evidentemente la forte quantità di *Cu* e di *Al* passata in soluzione aveva devitalizzato le spore di *Thielavia*; mentre riguardo all' *Ag a 800* deve evidentemente essersi trattato di azione combinata degli ioni *Ag* e *Cu* passati in soluzione; ma di questo si parlerà più a lungo fra breve.

L' *Au* e il *Pt* hanno dato un risultato pressochè uguale ai controlli sia nella percentuale di germinazione

(circa 85 %), che nell'allungamento dei tubi promicelici (circa 900 μ).

L'*Ag* a 1000 ha ridotto l'allungamento dei tubi prom. a circa $\frac{1}{3}$ di quelli dei controlli, ed ha anche abbassato un poco la percentuale di germinazione.

Anche il *Pb* si è presentato piuttosto deprimente sugli allungamenti prom. che ha ridotto a circa metà di quelli osservati nei controlli; la percentuale di germinazione è stata invece pressochè uguale a quella dei controlli stessi (v. fig. 11). Dopo qualche giorno il micelio dei preparati con *Pb* aveva dato origine a numerosi conidi e si presentava abbondantemente *plasmolizzato*, ma non aveva subito affatto quelle singolari trasformazioni che abbiamo visto essere caratteristiche del micelio di *Thielavia*, quando esso subisce l'azione a distanza del metallo.

Sono stati fatti a più riprese vari altri preparati con limatura di *Pb* in gocce di brodo a contatto con le spore e si sono ottenuti risultati anche molto più vicini ai controlli di quelli riportati più sopra, tanto che, in alcuni preparati, lo sviluppo del fungo è stato praticamente uguale a quello dei controlli stessi.

Il *Pb* tenuto a contatto del fungo perde dunque quasi completamente la singolare efficacia che dimostra nella sua azione a distanza e i vari suoi effetti diventano in questo caso del tutto simili a quelli espletati dal *Pb* *imparaffinato*. Sembrerebbe perciò che lo *straterello* di brodo che avvolge completamente le particelle di *Pb* fosse sufficiente ad assorbire gran parte delle radiazioni corpuscolari che abbiamo ammesso siano emesse dal metallo; tal piccolo strato di brodo si comporterebbe così nè più nè meno dello *straterello* di *paraffina* che riveste il metallo stesso. Quanto alla leggera azione deprimente dimostrata dal *Pb* a contatto, essa potrebbe essere dovuta tanto alla piccola parte di radiazione non trattenuta o ceduta dal

brodo, quanto alla piccola quantità del metallo che entra in soluzione, questione quest' ultima, che non intendo per ora di trattare onde non ampliare eccessivamente il lavoro.

L' azione di contatto del *Pb* sui conidi di *Thielavia* è stata anche provata: 1) in gocce di acqua comune, 2) in gocce di succo di tabacco, 3) in gocce della solita soluzione di saccarosio e glicocollo. Nei primi due substrati i risultati sono stati pressochè uguali ai controlli o appena leggermente inferiori; nel terzo substrato invece non si sono notate affatto germinazioni sebbene i conidi si conservassero turgidi e in buono stato.

In quest'ultimo caso però era evidente al microscopio (ed anche ad occhio nudo, sottoforma di una specie di opalescenza) una fitta e minuta granulazione dovuta probabilmente al passaggio di parte del metallo allo stato colloidale. Si spiega dunque benissimo come il comportamento del fungo in quest' ultimo substrato sia stato tanto diverso da quello manifestato nei precedenti: evidentemente l' attività chimica delle due sostanze componenti la soluzione, ed in particolare della glicocollo, aveva trascinato in soluzione una notevole quantità di metallo, sufficiente non soltanto ad inibire del tutto lo sviluppo dei germi, ma molto probabilmente anche ad ucciderli. Ciò del resto apparirà più chiaramente da quanto è appresso riportato a proposito dell' azione dello stesso metallo in soluzione.

Azione in soluzione. — E' stata usata, come substrato nutritizio, la solita soluzione di glicocollo e di saccarosio al 2 % unite nel rapporto di 1,5 a 3,5. Questa miscela permette ad un tempo alle spore di *Thielavia* di germinare ed ai metalli usati di rimanere in soluzione, caratteristiche queste non tanto facili da combinare assieme. Infatti si è dovuto scartare il brodo di carne ed

altre soluzioni nutritizie comunemente usate, perchè o facevano precipitare i metalli o non permettevano la germinazione delle spore.

Dei sei metalli sperimentati il *Cu*, il *Pb*, l'*Al* e l'*Ag* sono stati usati sotto forma di *nitrati*, mentre del *Pt* e dell'*Au* sono stati usati i *cloruri*. Questi sali sono stati aggiunti alle soluzioni nutritizie in quantità tali da avere determinate soluzioni *M* a diluizione varia, contenenti ciascuna un numero pressochè equivalente dei rispettivi cationi.

Sono state fatte 4 serie di preparati in goccia pendente; ciascuna era composta di due preparati per metallo, più i controlli; la prima serie conteneva i metalli in soluzione pressochè $M/200$, la seconda in soluzione pressochè $M/400$, la terza in soluzione pressochè $M/1000$, la quarta finalmente in soluzione pressochè $M/10.000$.

Le quattro serie di preparati sono state tenute per le prime 24 ore in termostato a 25° C, poi alla temperatura ambiente (circa 16°).

Dopo tre giorni dalla preparazione le quattro serie sono state osservate con i seguenti risultati.

I controlli di tutte quattro le serie erano sviluppatissimi. Quanto ai preparati contenenti i metalli eccone partitamente i risultati serie per serie.

Prima serie ($M/200$). Nei preparati con *Au* le spore si presentavano fortemente annerite e plasmolizzate; in quelli con *Cu* le spore erano fortemente plasmolizzate ed in avanzata disintegrazione; in quelli con *Pt* si notavano gli stessi fenomeni che nel *Cu*, ma meno accentuati; in quelli con *Ag* solo parte delle spore si presentava plasmolizzata, mentre parecchie di esse erano tuttora turgide; in quelli con *Pb* si notavano gli stessi fenomeni che nell'*Ag*, ma un poco più attenuati; finalmente in quelli con

Al le spore non erano quasi affatto plasmolizzate e si presentavano in gran parte ancora in buone condizioni. *Nessuno dei preparati di questa serie aveva germinato.*

Seconda serie (M/400). Questa serie ha dato risultati analoghi alla precedente, ma con effetti meno marcati, specialmente nei preparati con *Au*, nei quali le spore, anzichè essere completamente annerite, presentavano anneriti i vacuoli soltanto. *Anche in questa serie nessun preparato germinato.*

Terza serie (M/1000). Nei preparati con *Cu* si notava uno sviluppo del fungo *quasi uguale ai controlli*; in quelli contenenti rispettivamente *Pt*, *Au* e *Ag* si notavano spore plasmolizzate e *nessuna germinazione*; in quelli contenenti rispettivamente *Pb* e *Al* le spore erano in buone condizioni, ma *non germinate*, ad eccezione di pochissime che avevano appena iniziata la germinazione nei preparati con *Al*.

Quarta serie (M/10000). Nei preparati con *Cu* si notava uno sviluppo praticamente uguale ai controlli; in quelli contenenti rispettivamente *Pb* e *Al* lo sviluppo era un poco inferiore al controllo; in quelli con *Au* lo sviluppo era leggermente inferiore ai preparati contenenti *Pb* e *Al*; in quelli con *Pt* lo sviluppo era ancora leggermente minore che nei preparati con *Au*; l'*Ag*, nemmeno in questa bassa concentrazione, aveva permesso la germinazione ed anzi aveva plasmolizzato un poco le spore ⁽¹⁾.

(1) I preparati di questa serie erano stati osservati anche dopo un giorno dalla loro preparazione; per il *Cu*, il *Pb*, l'*Al* e l'*Ag* il rapporto di sviluppo rispetto ai controlli era pressochè uguale a quello suddetto; per il *Pt* e l'*Au* invece vi è stato notevole ritardo, in quanto, dopo le prime 24 ore, i preparati con *Pt* non avevano ancora germinato, e quelli con *Au* avevano appena iniziato la germinazione.

Con la scorta dei dati ora riportati è possibile costruire una *scala crescente della tossicità* manifestata sul fungo in esame dai sei metalli presi in considerazione.

Di gran lunga meno tossico fra tutti per la *Thielavia* si è mostrato il *Cu*, che già in soluzione $M/1000$ ha permesso ai conidi del fungo uno sviluppo quasi uguale a quello raggiunto dal controllo; seguono, in ordine di crescente tossicità, l'*Al* e il *Pb* che, in soluzione $M/10000$, hanno dato uno sviluppo leggermente inferiore al controllo; vengono poi l'*Au* e il *Pt* che, sempre in soluzione $M/10000$, si sono mostrati leggermente più tossici dei due metalli precedentemente indicati; segue infine, a notevole distanza, l'*Ag* che, alla stessa tenue concentrazione suddetta, non soltanto ha completamente inibito lo sviluppo, ma anche prodotto lievi alterazioni nelle spore.

L'azione in soluzione del *Pb* è stata anche provata aggiungendo il nitrato di *Pb*, in determinate proporzioni, al brodo di carne, in modo da ottenere delle soluzioni approssimativamente $M/200$, $M/2000$ e $M/20000$. Bisogna però rilevare che nelle gocce si era formato subito, a spese del *Pb*, un precipitato biancastro che era evidentissimo ad occhio nudo nelle soluzioni $M/200$ e con l'aiuto del microscopio nelle altre due soluzioni; perciò è chiaro che in tali condizioni il brodo non doveva tenere più *Pb* in soluzione o almeno tenerne pochissimo. Comunque il *Pb* era presente nel brodo sottoforma di fine precipitato, ed in queste condizioni esso non ha fatto sentire nessuna influenza sullo sviluppo della *Thielavia*, tanto che i preparati che lo contenevano si sono comportati nello stesso modo dei rispettivi controlli senza *Pb*.

In considerazione di quanto procede possiamo dunque osservare che se è possibile trovare un *parallelismo* tra l'azione dei metalli per contatto e quella degli stessi

metalli in soluzione — tenendo conto del diverso coefficiente di solubilità in brodo della limatura dei metalli stessi —, *ogni parallelismo viene del tutto a mancare* quando le azioni dei metalli per *contatto* e in *soluzione* si considerino in rapporto alla loro azione a *distanza*. Vediamo infatti, prendendo in considerazione soltanto i metalli più significativi, che il *Pb*, mentre si è mostrato tanto *energico nella sua azione a distanza*, è invece apparso uno dei più blandi e *meno tossici nelle sue azioni per contatto ed in soluzione*; al contrario l'*Ag*, che è stato uno dei *meno deprimenti nella sua azione a distanza*, ha dimostrato di essere *fortemente tossico in soluzione e nettamente deprimente per contatto*; il *Cu*, *nettamente deprimente a distanza*, si è mostrato invece il *meno tossico in soluzione*.

Questi singolari rilievi ci autorizzano pertanto ad ammettere che l'azione a distanza dei metalli sia *legata a fattori del tutto diversi* da quelli che regolano l'azione di contatto e quella di soluzione, chè altrimenti non si spiegherebbe tanta *diversità di effetti* da parte di uno *stesso metallo* sopra uno *stesso organismo*.

Orbene questi punti di vista, trovano, nel caso del *Pb*, una conferma — non soltanto, come ora si è rilevato, nella assoluta diversità di effetti da esso prodotti a distanza, per contatto e in soluzione sull'organismo studiato all'inizio del suo sviluppo — ma anche nel perdurare di tale diversità di effetti durante tutto il successivo sviluppo dell'organismo stesso. Infatti si è visto che mentre il *Pb* a distanza esercita sulle brodoculture di *Thielavia* un'azione *rallentatrice* che si concreta generalmente nella profonda modificazione della *forma* e delle *attitudini* del micelio normale, con formazione delle *rosette* e dei caratteristici *rigonfiamenti*, lo stesso metallo, nell'azione di

contatto e di soluzione esercitata sullo stesso organismo, *perde completamente* tutte quelle caratteristiche di effetti che ne contraddistinguono l'azione a distanza.

A giudicare dalla diversità degli effetti prodotti sembra pertanto logico concludere che radicalmente diverso sia, nei riguardi dei metalli, il meccanismo dell'azione a distanza, da quello dell'azione per contatto ed in soluzione. Infatti l'azione a distanza deve essere necessariamente un'azione *indiretta* prodotta non dal metallo come tale, ma come ha già ampiamente spiegato il Rivera, dalla sua *capacità ad emettere radiazioni* che avrebbero una marcata influenza tanto sulla *vitalità del fungo* che sulle *qualità del mezzo* nel quale il fungo si trova a vivere.

**Sensibilità delle spore di *Erysiphe graminis* e di
Puccinia graminis per le azioni a distanza dei
metalli usati.**

Vista la marcata azione esercitata da alcuni metalli, e specialmente dal *Pb*, sulle brodoculture di *Thielavia basicola* e tenuti altresì presenti i vistosi effetti ottenuti dal Rivera e dal Corneli sulle brodoculture di *Penicillium crustaceum* e di *P. glaucum*, si è voluto provare la sensibilità di qualche altro fungo parassita alle azioni a distanza dei soliti metalli.

E poichè fin qui l'azione a distanza era stata provata soltanto su parassiti che si adattano assai bene alla vita saprofitaria o addirittura su saprofiti, si è ritenuto opportuno provare anche la *sensibilità* di alcuni *parassiti obbligati* per le azioni di questo genere.

La scelta, per comodità di indagine, è caduta sull'*Erysiphe graminis* e sulla *Puccinia graminis*.

Prove con *Erysiphe graminis*. — E' stata fatta una serie completa di preparati a goccia pendente contenenti le spirali dei soliti metalli (*Pb*, *Ag a 800*, *Ag a 1000*, *Cu*, *Al*, *Pt*, *Au*); per ogni metallo sono stati fatti due preparati, oltre i controlli.

I conidi di *Erysiphe* sono stati prelevati da piantine di orzo, scuotendone le foglie in modo da far cadere i conidi più maturi su un vetrino da orologio e poter così contare su una partita di spore approssimativamente omogenea nei riguardi della loro germinabilità. Tali conidi sono stati disseminati in gocce di *acqua* comune e poi chiusi nei preparati, che sono stati lasciati alla temperatura dell'ambiente (circa 16° C).

Dopo due giorni sono state fatte le osservazioni ed è stato notato che la germinazione era avvenuta nei vari preparati in modo praticamente *uguale ai controlli*.

Trascurando gli altri metalli, sono stati rifatti una seconda volta i preparati con *Pb*; i risultati sono stati anche questa volta concordi con quelli della precedente prova.

Senonchè in considerazione della notevolissima importanza che il substrato aveva mostrato nell'intensificare o nel diminuire l'efficacia del *Pb* sullo sviluppo della *Thielavia*, si è pensato che l'acqua non fosse il mezzo più adatto per mettere in evidenza tali effetti; e perciò, tralasciando anche questa volta gli altri metalli, sono stati rifatti soltanto i preparati con *Pb*, disseminando i conidi di *Erysiphe* in gocce di *brodo* di carne, anzichè in gocce di acqua. Gli effetti sono stati pressochè uguali a quelli ottenuti nelle gocce d'acqua; tuttavia una *leggera depressione* è stata riscontrata nei preparati con *Pb* rispetto ai controlli.

In ogni modo si può senz'altro asserire che questo fungo, nelle condizioni sperimentali prodotte, si è mostrato quasi *insensibile* all'azione a distanza di tutti i metalli presi in considerazione.

Prove fatte con *Erysiphe graminis*. — Le uredospore del fungo sono state prelevate immergendo le foglie rugginose di grano (Gentil rosso) in poca acqua, in modo da raccogliere alla superficie dell'acqua le spore più mature e perciò più germinabili. Tale sospensione è stata ben mescolata e poi distribuita in gocce d'acqua comune, con le quali sono state allestite le solite serie di preparati a goccia pendente.

Sono state fatte tre prove, ognuna delle quali consisteva di una serie di 20-21 preparati tenuti sempre alla temperatura dell'ambiente (circa 20° C).

Ecco le tabelle dei risultati relativi alle tre prove fatte.

I Prova. — Preparati fatti il 9-VI-1934 e osservati il 10-VI coi seguenti risultati.

Gradazione delle germinazioni

Trattamento	poco	abbastanza	notevolmente	molto	moltissimo	N.° dei preparati
Controllo . . .	2	—	—	—	—	2
Pb	2	—	—	—	—	2
Pb paraff. . .	1	1	—	—	—	2
Ag 800 t. . .	—	—	1	1	—	2
Ag 800 p. . .	1	1	—	—	—	2
Ag 1000 . . .	2	—	—	—	—	2
Cu	—	—	—	2	—	2
Au	1	1	—	—	—	2
Pt	1	—	1	—	—	2
Al	1	—	1	—	—	2

II Prova. - Preparati fatti il 10-VI-1934 e osservati l' 11-VI coi seguenti risultati.

Gradazione delle germinazioni

Trattamento	poco	abba- stanza	notevol- mente	molto	moltissi- mo	N.º dei preparati
Controllo . . .	1	1	—	—	1	3
Pb	—	1	1	—	—	2
Pb paraff. . .	—	—	—	1	1	2
Ag 800 t. . . .	—	—	—	—	2	2
Ag 800 p. . . .	—	—	1	1	—	2
Ag 1000	—	1	—	1	—	2
Cu	—	—	—	1	1	2
Au	—	—	—	1	1	2
Pt	—	—	1	1	—	2
Al	—	—	—	1	1	2

III Prova. - Preparati fatti il 12-VI-1934 e osservati il 13-VI coi seguenti risultati.

Gradazione delle germinazioni

Trattamento	poco	abba- stanza	notevol- mente	molto	moltissi- mo	N.º dei preparati
Controllo . . .	3	—	—	—	—	3
Pb	—	—	1	1	—	2
Pb paraff. . .	2	—	—	—	—	2
Ag 800 t. . . .	1	1	—	—	—	2
Ag 800 p. . . .	1	1	—	—	—	2
Ag 1000	1	—	1	—	—	2
Cu	2	—	—	—	—	2
Au	2	—	—	—	—	2
Pt	—	2	—	—	—	2
Al	—	—	1	1	—	2

N.B. - Le differenze trovate nello sviluppo delle uredospore riguardano soltanto le percentuali di germinazione, perchè gli allungamenti dei tubi promicelici sono stati praticamente equivalenti in tutti i preparati.

Come si vede dalle tre tabelle esposte, neanche la *Puccinia graminis* ha mostrato per gli effetti a distanza dei metalli usati, una sensibilità ben netta e concorde.

Sembra che i metalli in genere, e specialmente l'*Ag* a 800 p., il *Cu* e l'*Al*, abbiano dimostrato un'azione *eccitante* sulla germinabilità delle uredospore, ma non si può trarne conclusioni molto attendibili in quanto con questi germi non è possibile, come con la *Thielavia*, procurarsi sospensioni omogenee che garantiscano gruppi di spore ugualmente germinabili in ciascun preparato. Ciò che appare manifesto è che, per la *Puccinia*, il *Pb* non ha avuto affatto azione deprimente e rallentatrice, così come esso non l'ha dimostrata per l'*Erysiphe graminis*.

Per la stessa ragione ora detta a proposito dell'*Erysiphe*, sono stati fatti anche con la *Puccinia* i preparati in *brodo* e pure questa volta è stato provato il *Pb* soltanto; ma anche nel brodo le germinazioni sono state *abbondantissime ed equivalenti* tanto nei preparati con *Pb* che nei controlli.

Questi risultati ci fanno concludere che, nelle condizioni sperimentali indicate, la *sensibilità* dei germi fungini per le azioni a distanza di certi metalli, apparisce solo in alcune specie e non in altre e che, mentre essa è ben chiara nella maggior parte, forse, dei funghi che si adattano bene alla vita saprofitaria, *non è evidente nei parassiti siti obbligati* su cui si è sperimentato.

Conclusioni finali.

A) *Effetti prodotti da metalli posti a distanza di 1-2 mm. sullo sviluppo di conidi di Thielavia basicola in brodocultura.*

1) Il *Pb* si è mostrato *fortemente deprimente* sullo sviluppo del fungo.

2) L'azione deprimente del *Pb* si esplica sostanzialmente in *due modi* diversi: essa può essere *rallentatrice* o *inibitrice*; è rallentatrice quando permette lo sviluppo delle spore, inibitrice quando non ne permette neanche la germinazione. Coll'azione rallentatrice è in genere strettamente connessa una forte azione *modificatrice* della *forma* e delle *attitudini* del fungo e specialmente dell'attitudine a *produrre conidi*; però il fungo in questo caso si conserva in vita piuttosto lungamente. L'azione inibitrice invece, dopo un certo tempo, culmina sempre con la *morte* delle spore, a meno che ad un certo momento, finchè le spore son vive, non venga a mancare la causa inibente (*Pb*).

3) Le modificazioni prodotte dal *Pb* sul fungo si riferiscono soprattutto all'alterazione della forma micelica normale del fungo stesso con produzione di caratteristici *rigonfiamenti*, che si accentuano vieppiù man mano che la cultura si invecchia; si nota inoltre la formazione di « *rosette* » di micelio con le quali ha inizio generalmente lo sviluppo del fungo; infine nelle brodoculture di *Thielavia* in presenza di *Pb* non si nota quasi mai formazione di *conidi*.

4) Se dopo 2-3 giorni dacchè i preparati sono stati fatti (cioè quando la germinazione non è ancora avvenuta o è appena iniziata), si *toglie* il *Pb* dai preparati, si ha

un *improvviso* e *rapido accrescimento* del fungo; però il micelio, in questi preparati, non presenta nessuna delle caratteristiche che contraddistinguono il micelio sviluppatosi costantemente alla presenza del metallo, esso è invece del tutto *simile ai controlli*, sebbene sia meno sviluppato; in genere però tale micelio si altera e *degenera molto prima* di quello cresciuto lentamente sotto l'azione continua del *Pb*.

5) La *provenienza* e forse anche la *forma* dei fili di *Pb* con cui si è sperimentato hanno un'importanza notevole sulla maggiore o minore efficacia del metallo stesso.

6) Il *Cu* e l'*Al*, e specialmente il primo si sono mostrati *nettamente deprimenti* però in maniera ben più leggera che il *Pb*; si tratta, più che altro, di un'azione *ral-lentatrice* degli inizi di sviluppo, ma che poi non ha influenza notevole sul successivo accrescimento del fungo.

7) Il *Pt*, l'*Ag* e l'*Au* hanno mostrato un leggero effetto deprimente sugli allungamenti promicelici, mentre sulle percentuali di germinazione l'effetto è stato così lieve che si può praticamente trascurare.

8) Il *Pb imparaffinato* ha dato un effetto *deprimente* molto *più leggero* che quello dello stesso metallo nudo. Peraltro l'effetto *schermante* della paraffina è proporzionale allo spessore dello strato di essa che avvolge il metallo.

9) L'*Ag a 800* ha dato risultati ben diversi a seconda della sua *forma* e, forse, della sua *provenienza*. Infatti l'*Ag a 800* in *striscie piatte* è stato leggermente *eccitante* mentre lo stesso metallo in *fili tondi* è stato *nettamente deprimente*.

10) Non vi è stata correlazione tra l'*efficacia* dei vari metalli sullo sviluppo di questo fungo, e il *peso atomico* dei metalli stessi.

B) *Influenza del substrato sulle azioni a distanza del Pb.*

11) Il substrato di cultura ha un'influenza molto marcata nel favorire o nell'ostacolare l'efficacia deprimente del *Pb* sullo sviluppo della *Thielavia*. Infatti tale efficacia deprimente è stata *massima* nelle *brodocolture*, *intermedia* nelle colture in *acqua* e in *soluzione di saccarosio e glicocollo* al 2 0/0, *minima* nelle colture in *succo di tabacco* filtrato per candela.

È dunque molto probabile che l'intimo meccanismo degli effetti a distanza esercitati dal *Pb* e in genere dai metalli, sia da collegarsi essenzialmente con *fatti di carattere alimentare*, o che la sensibilità per l'azione dei metalli, da parte del micelio fungino, vari a seconda dello stato di nutrizione del fungo stesso, in dipendenza della presenza o mancanza di sostanze determinate nel substrato.

C) *Effetti prodotti dai metalli (limatura) a contatto sullo sviluppo dei conidi di Thielavia basicola in brodocultura.*

12) La limatura di *Cu*, di *Al* e di *Ag* a 800, messa nelle gocce a *contatto* dei conidi del fungo, ha *inibito* completamente il loro sviluppo, *alterandoli* profondamente. Tale marcato effetto è dovuto al passaggio in soluzione colloidale di rilevanti quantità dei suddetti metalli.

13) La limatura di *Au* e di *Pt* ha permesso al fungo uno sviluppo pressochè *uguale ai controlli*

14) La limatura di *Ag* ha avuto un effetto nettamente *deprimente* sullo sviluppo del fungo.

15) La limatura di *Pb* ha avuto sul fungo un effetto *leggermente deprimente* rispetto ai controlli.

L'effetto per contatto del *Pb* è stato pressochè uguale a quello esercitato dal *Pb paraffinato*, perciò si può pensare che lo straterello di brodo avvolgente le particelle

del metallo abbia avuto un effetto *schermante* equivalente allo straterello di paraffina che rivestiva le spirali di *Pb*.

D) *Effetti prodotti dai metalli in soluzione sullo sviluppo dei conidi di Thielavia in soluzione nutritizia di saccharosio e glicocollo al 2 ‰*.

16) L'ordine crescente del *potere tossico* dei metalli in soluzione è stato il seguente: a) *Cu*, che in soluzione *M/1000* ha permesso al fungo uno sviluppo quasi uguale ai controlli; b) *Al* e *Pb*, che in soluzione *M/10000* hanno permesso al fungo uno sviluppo pressochè uguale ai controlli; c) *Au*, che in soluzione *M/10000* ha permesso al fungo uno sviluppo *leggermente inferiore* ai due metalli precedenti; *Pt*, che in soluzione *M/10000*, ha permesso al fungo uno sviluppo *un poco inferiore all' Au*; e) *Ag*, che in soluzione *M/10000* ha *inibito completamente* lo sviluppo del fungo.

17) Esiste un certo *parallellismo* tra gli effetti esercitati dai metalli a *contatto* e quelli esercitati dagli stessi metalli in *soluzione*. Non esiste invece *nessun parallelismo* fra i due *effetti suddetti* e gli *effetti a distanza* esercitati dai metalli stessi. Queste constatazioni ci fanno pertanto ritenere che il meccanismo dell'azione a distanza sia radicalmente *diverso* da quello dell'azione per contatto ed in soluzione. E precisamente si ha ragione di credere che l'azione a distanza dei metalli non sia un'azione *diretta* del metallo come tale, ma piuttosto un'azione *indiretta* riconnessa con la capacità del metallo stesso ad *emettere radiazioni*.

E) *Effetti prodotti da metalli posti a distanza di 1-2 mm. sulla germinazione delle spore di Erysiphe graminis e di Puccinia graminis tenute in acqua e in brodo*.

18) Le spore di questi due parassiti hanno mostrato di essere pressochè *insensibili all'azione a distanza*

dei metalli usati. Anche il *Pb*, tanto efficace sulla *Thielavia*, sul *Penicillium* e su altri funghi che hanno attitudini saprofitarie, non ha dimostrato nessun effetto notevole su questi due *parassiti obbligati*.

19) La *sensibilità palese* dei vari germi fungini alle azioni a distanza dei metalli non riguarda il totale dei germi stessi, almeno nelle condizioni sperimentali usate, ma tra questi se ne trovano dei *sensibilissimi* (*Thielavia*) e dei *non sensibili* (*Erysiphe* e *Puccinia*).

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE

TAVOLA I.

- Fig. 1.* - Preparato mostrante la *spirale metallica (Pb)* nel fondo della cameretta e la *goccia pendente* nello spazio lasciato libero al centro della spirale stessa. Le spire *si toccano* in più punti. Il metallo *dista 1-2 mm.* dalla superficie della goccia. Il preparato è lutato con paraffina. (Ingrandito circa una volta e mezzo).
- Fig. 2.* - Preparato in goccia pendente di *brodo di carne*; si vedono conidi di *Thielavia basicola Zopf.* che iniziano la germinazione in presenza di *Pb* dopo circa 24 ore che il preparato è stato fatto. Questa figura e tutte le successive sono *ingrandite 125 volte* circa.
- Fig. 3.* - Preparato in goccia pendente di *brodo di carne*, senza la spirale di *Pb*; *controllo* del preparato precedente dopo circa 24 ore dalla preparazione.
- Fig. 4.* - Preparato in goccia pendente di *estratto di tabacco*, mostrante conidi di *Thielavia* germinati in presenza di *Pb* dopo circa 24 ore dalla preparazione; si osservi lo sviluppo molto maggiore in confronto a quello avvenuto in *brodocoltura* (fig. 2).
- Fig. 5.* - - Preparato in goccia pendente di *estratto di tabacco*, senza la spirale di *Pb*; *controllo* del caso precedente dopo circa 24 ore dalla preparazione.

TAVOLA II.

- Fig. 6.* - Preparato in goccia pendente di *brodo* di carne mostrante le germinazioni « *a rosetta* », manifestatesi dopo circa una *settimana* che i conidi in germinazione avevano subito l'*azione a distanza* di una spirale di filo di *Pb*.
- Fig. 7.* - Preparato in goccia pendente di *brodo* di carne mostrante i *caratteristici rigonfiamenti* formatisi nel micelio dopo 40 giorni circa che esso aveva subito ininterrottamente l'*azione del Pb*. Non si

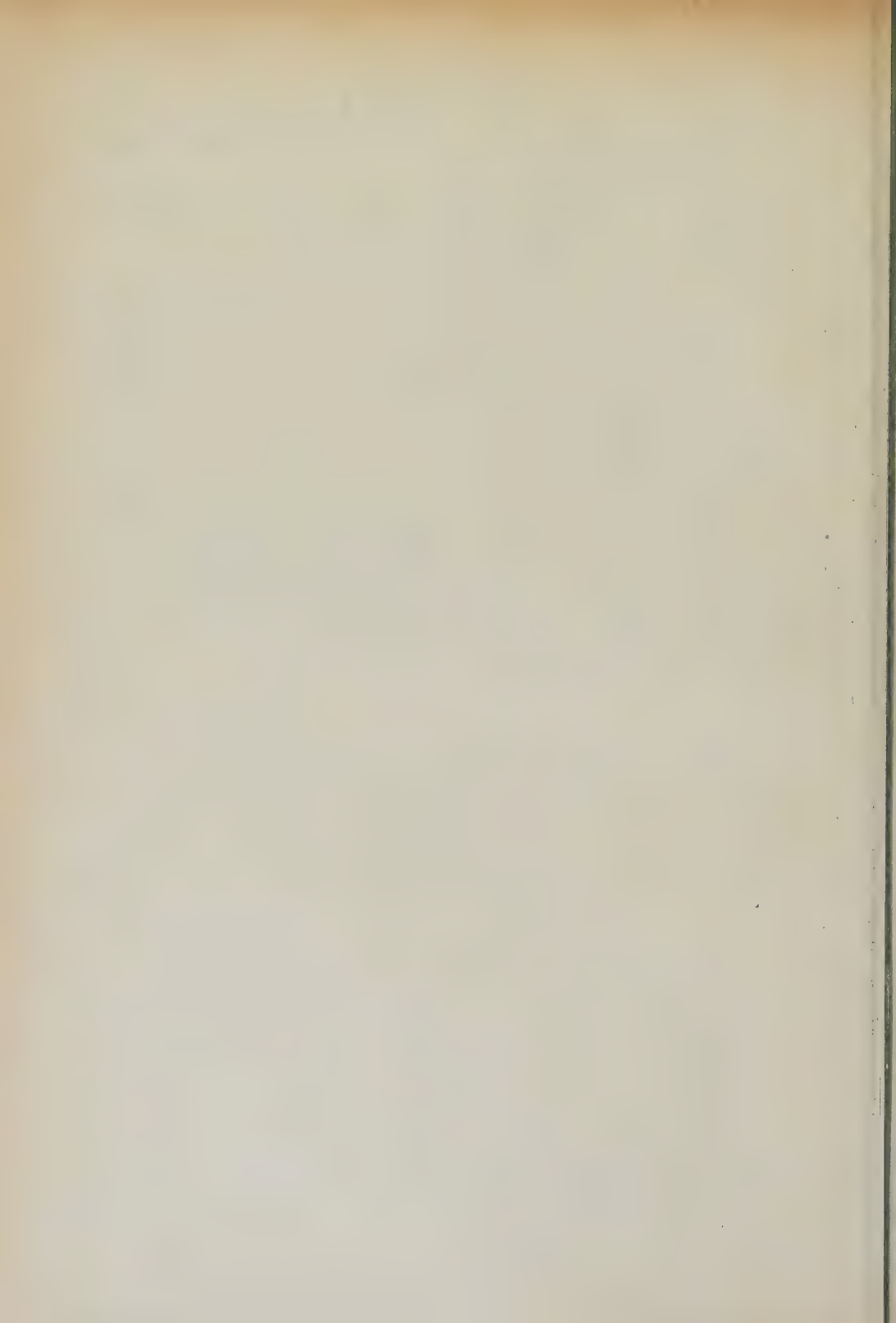
nota affatto produzione di conidi ed il micelio si conserva tuttora *turgido e vitale*.

Fig. 8. - *Rigonfiamenti* del micelio, ma *più accentuati*, in un altro preparato a goccia pendente di *brodo* di carne con *Pb* a distanza, dopo circa 40 giorni dalla preparazione.

Fig. 9. - Preparato in goccia pendente di brodo di carne mostrante lo sviluppo del fungo nel *controllo* dopo circa 40 giorni dalla preparazione. Si noti l' *abbondante produzione di conidi e la regolarità* nella struttura del micelio, che peraltro già comincia in diversi punti ad alterarsi.

Fig. 10. - Preparato in goccia pendente di *brodo* di carne. I conidi sono rimasti per 18 giorni alla presenza di *Pb* *senza germinare*; tolto il metallo, essi hanno germinato dopo altri 3 giorni, generando un micelio piuttosto *contorto*, formante *anse caratteristiche*.

Fig. 11. - Preparato in goccia pendente di *brodo* di carne mostrante conidi germinanti *a contatto di limatura di Pb*, dopo circa 24 ore dalla preparazione.



SEMPIO C. - Azione di alcuni metalli a distanza per contatto ed in soluzione sullo sviluppo della « *Thielavia Basicola* » Zopf., ecc.



Fig. 1.

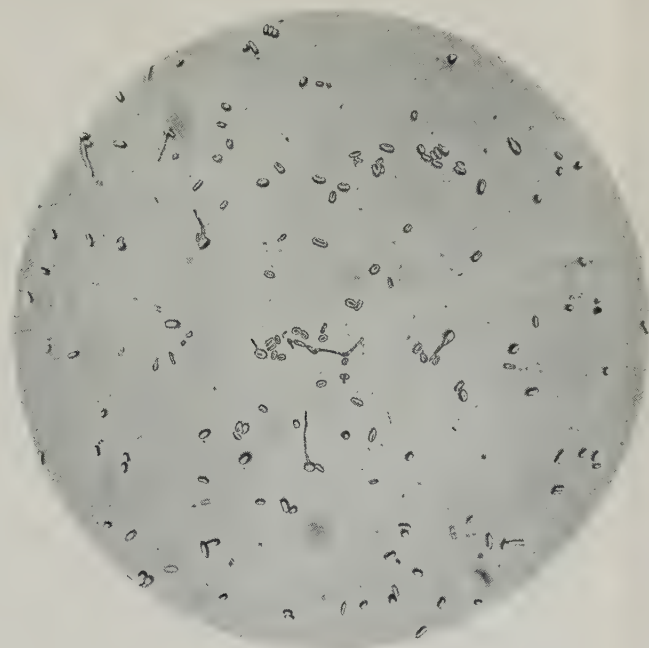


Fig. 2.

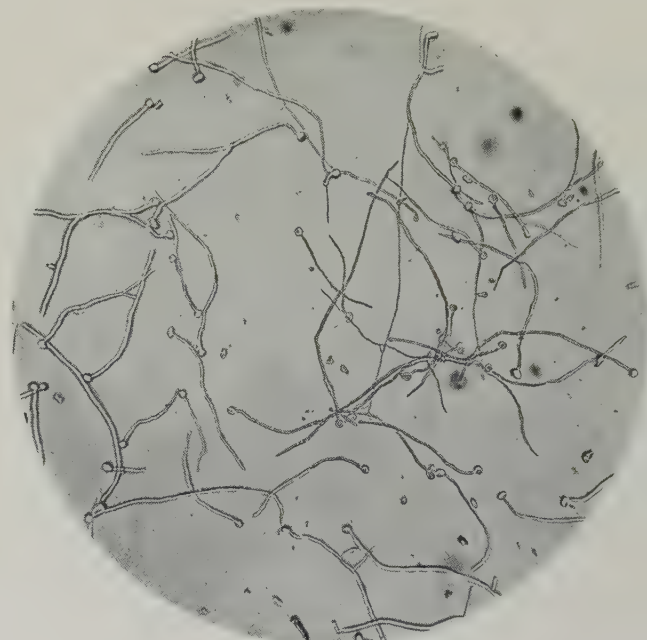


Fig. 3.

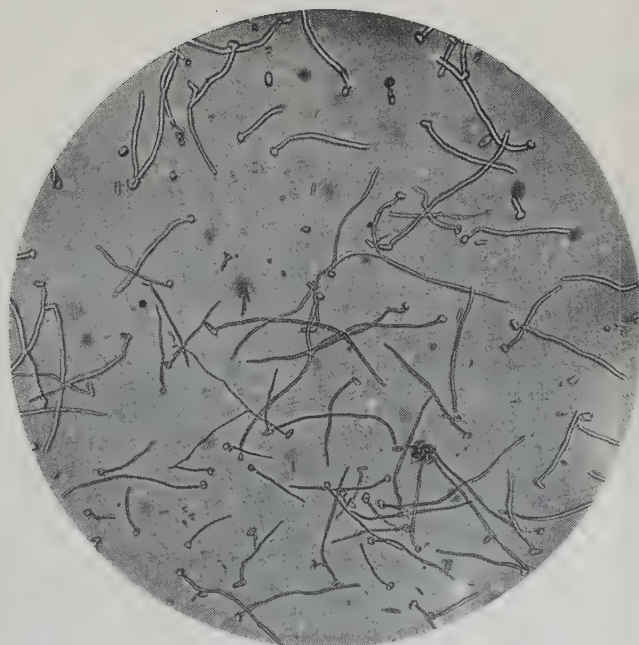


Fig. 4.

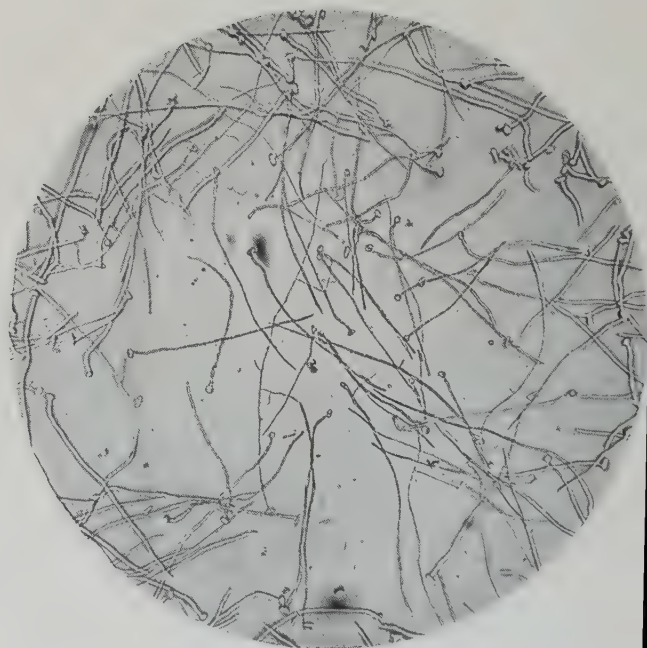


Fig. 5.

SEMPIO C. - Azione di alcuni metalli a distanza per contatto ed in soluzione sullo sviluppo della « *Thielavia Basicola* » Zopf., ecc.

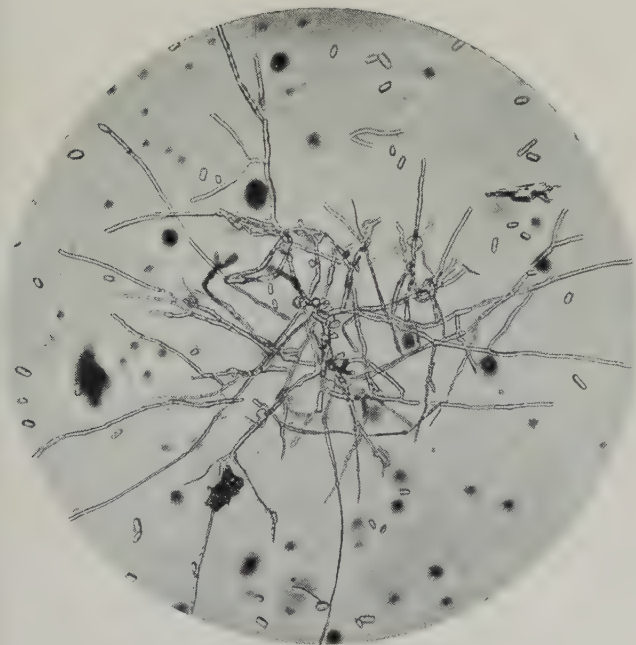


Fig. 6.

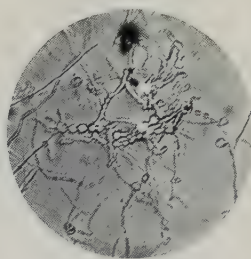


Fig. 8.

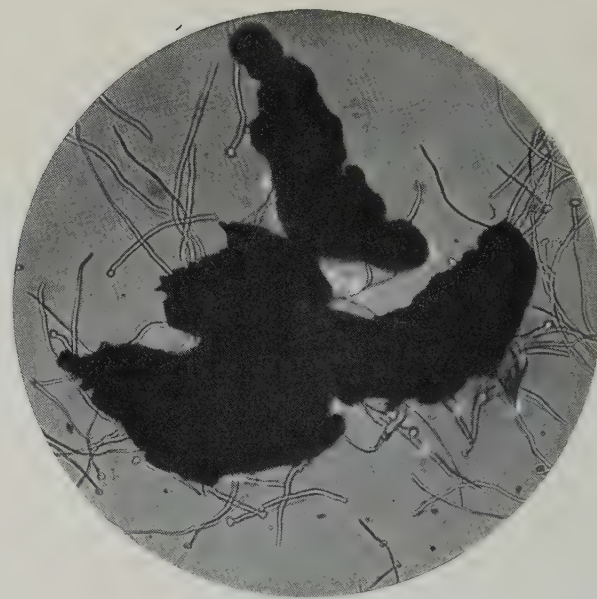


Fig. 9.

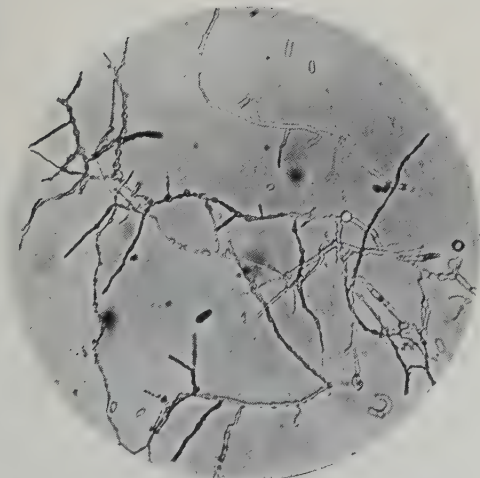


Fig. 7.

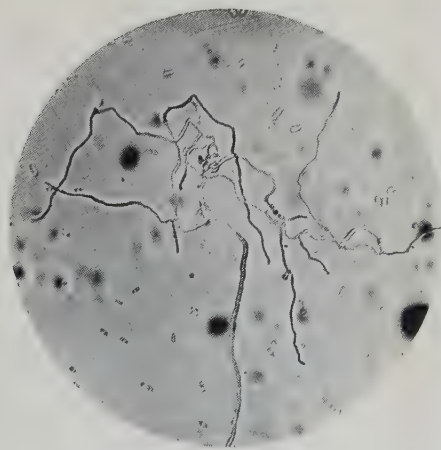


Fig. 10.

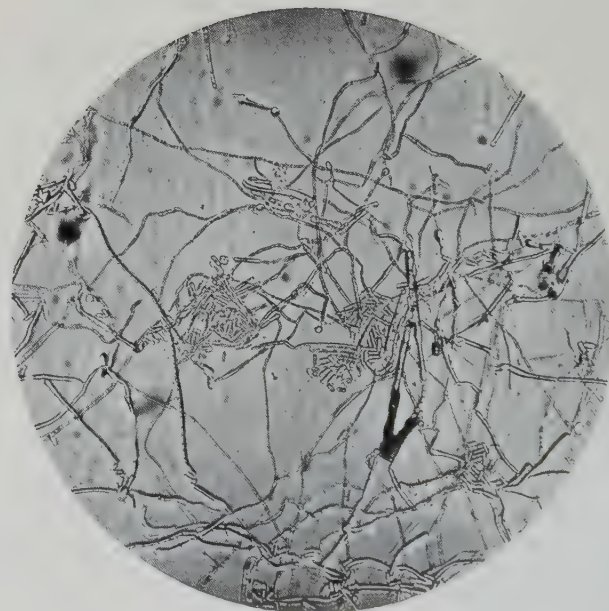
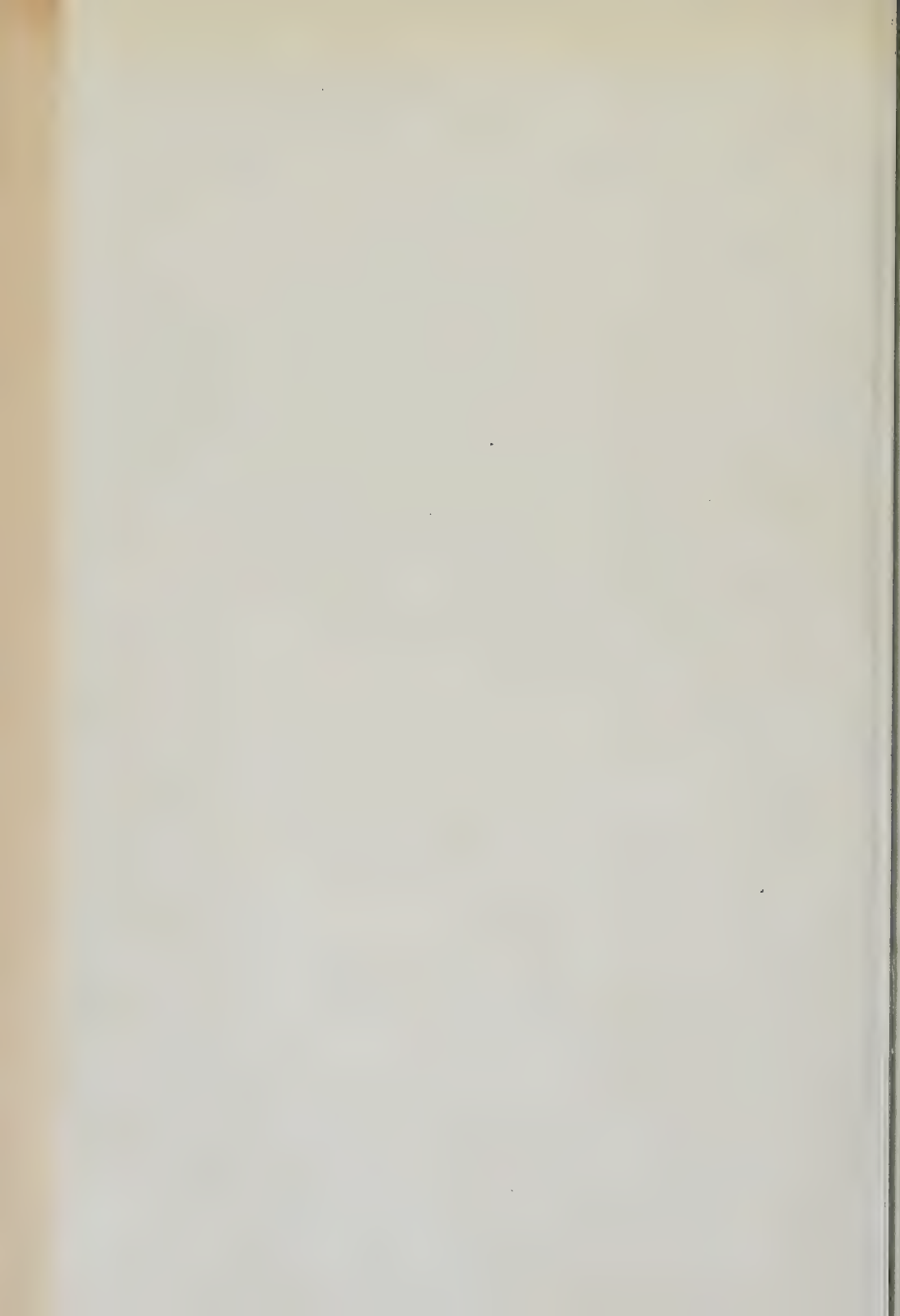


Fig. 11.



DOTT. C. SEMPIO

Influenza di alcuni cationi sulla recettività del ricino al “*B. tumefaciens*”, e sullo sviluppo di quest’ultimo in coltura (agar di brodo)

Queste ricerche hanno lo scopo di studiare se e quale influenza alcuni cationi, di particolare importanza in biologia, abbiano nell’esaltare o nel deprimere la normale resistenza delle piante di ricino agli attacchi di uno dei loro più docili parassiti, il *B. tumefaciens*, tenendo naturalmente, nello studio dei fatti, anche il dovuto conto della tossicità che detti cationi possano avere sul parassita ⁽¹⁾.

I cationi presi in considerazione per questo studio sono stati i seguenti: Ce, Hg, Li, Ag, Pb, Cu, Co, Ba, Pd, U, Th, K, Cd, Zr, Sr, Zn, Al, Fe, tutti usati sotto

⁽¹⁾ Non mi risulta che di questo argomento particolare — della influenza di cationi sui tumori vegetali — ci sia una abbondante letteratura; comunque, per quanto riguarda l’influenza e l’importanza dei metalli sugli organismi in genere, argomento che è stato invece abbondantemente trattato, rimando alla recente monografia di M. MITOLO « *Metalli e metalloidi non comuni negli organismi* » (in *Collana di manuali e monografie* diretta dal Prof. S. BAGLIONI, Ed. Fisiologia e Medicina, Roma, 1932), che tratta anche abbastanza largamente quanto riguarda l’influenza dei metalli sui vegetali.

forma di nitrati, al fine di avere in soluzione un radicale acido comune e certamente non dannoso alle piante. In un secondo tempo ai suddetti cationi in esperimento è stato aggiunto anche il Ni.

Poichè per queste ricerche volevo agire sempre con numero pressochè uguale di atomi per ogni metallo, prescindendo dal loro peso — appunto per fare assorbire ad ogni piantina un numero approssimativamente uguale di unità materiali ed energetiche ⁽¹⁾ di ciascun metallo — mi sono valso, come punto di partenza delle *soluzioni* M/100 dei suddetti nitrati ⁽²⁾. Tali soluzioni venivano poi diluite opportunamente prova per prova, al fine di ottenere la concentrazione atomica voluta. Naturalmente, nel pesare la quantità di sali necessaria a fare un litro della rispettiva soluzione M/100, si è tenuto conto del peso dovuto alle molecole di acqua di cristallizzazione.

Trascrivo la seguente tabella destinata più che altro (oltre che a riunire i pesi atomici dei metalli usati e i pesi molecolari dei rispettivi nitrati) a mettere in evidenza la quantità, in grammi, di ciascun metallo contenuta in 100 cc. di soluzione M/100 e di soluzione M/10000.

⁽¹⁾ Si intende che il numero degli atomi assorbiti dalle singole piante non poteva essere uguale che con un' approssimazione molto larga, perchè varie erano le difficoltà che ostacolavano una maggiore esattezza: anzitutto, come si vedrà bene in seguito, non vi era quasi mai lo stesso numero di piantine nei vari bicchieri destinati ai diversi trattamenti, in quanto molte di esse morivano e in numero diverso da bicchiere a bicchiere; in secondo luogo il coefficiente di assorbimento poteva essere diverso da pianta a pianta e da metallo a metallo; infine, per quanto si facesse il possibile di essere esatti nelle misure, non si raggiungeva certo, per ragioni ovvie, l' esattezza chimica, che del resto, dopo quanto si è detto, appariva anche superflua.

⁽²⁾ Essendo l' HNO_3 un acido monobasico, le soluzioni M (molecolari) dei suoi sali contengono sempre un numero uguale di atomi metallici e di cationi.

TABELLA I.^a

Elementi	Pesi atomici	Nitrati	Peso moleco- lare	Acqua di cristallizzazione	Quantità, in gr., di ciascun nitrato anidro cont. in 100 cc. di soluz. M/100	Quantità, in gr., di ciascun metallo contenuto in 100 cc. di soluz. M/100	Quantità, in gr., di ciascun metallo contenuto in 100 cc. di soluz. M/10000
1 Li	6,94	LiNO ₃	69	—	0,69	0,07	0,0007
2 Al	27,1	Al(NO ₃) ₃	213	+ 9 H ₂ O = 162	2,13	0,27	0,0027
3 K	39,1	KNO ₃	101	—	1,01	0,39	0,0039
4 Fe	55,84	Fe(NO ₃) ₃	242	+ 6 H ₂ O = 108	2,42	0,56	0,0056
5 Ni	58,7	Ni(NO ₃) ₂	290,7	+ 6 H ₂ O = 108	2,91	0,59	0,0059
6 Co	58,97	Co(NO ₃) ₂	183	+ 6 H ₂ O = 108	1,83	0,59	0,0059
7 Cu	63,57	Cu(NO ₃) ₂	187,6	+ 3 H ₂ O = 54	1,87	0,63	0,0063
8 Zn	65,37	Zn(NO ₃) ₂	189,4	+ 6 H ₂ O = 108	1,89	0,65	0,0065
9 Sr	87,63	SrNO ₃	221,6	+ 4 H ₂ O = 72	2,21	0,87	0,0087
10 Zr	90,6	Zr(NO ₃) ₄	338,6	—	3,38	0,90	0,0090
11 Pd	106,7	Pd(NO ₃) ₂	230,7	—	2,31	1,07	0,0107
12 Ag	107,8	AgNO ₃	169,8	—	1,70	1,08	0,0108
13 Cd	112,4	Cd(NO ₃) ₂	136,4	+ 4 H ₂ O = 72	1,36	1,12	0,0112
14 Ba	137,37	Ba(NO ₃) ₂	261,4	—	2,61	1,37	0,0137
15 Ce	140,25	CeNO ₃	202,2	—	2,02	1,40	0,0140
16 Hg	200,6	Hg(NO ₃) ₂	324,6	—	3,24	2,00	0,0200
17 Pb	207,2	Pb(NO ₃) ₂	331,2	—	3,31	2,07	0,0207
18 Th	232,4	Th(NO ₃) ₄	480,4	+ 4 H ₂ O = 72	4,80	2,32	0,0232
19 U	238,2	UO ₂ (NO ₃) ₂	394,2	+ 6 H ₂ O = 108	3,94	2,38	0,0238

Schema della tecnica usata.

Le prove impiantate sono state numerose per evitare fra l'altro, per quanto possibile, le principali cause d'errore che questo studio poteva presentare.

I particolari sperimentali delle singole prove sono stati via via variati per chiarire sempre meglio quegli aspetti del problema che venivano apparendo oscuri. Trascriverò perciò dapprima la parte comune a tutte le prove, riservandomi di dire poi, caso per caso, i particolari in cui le singole esperienze differivano dallo schema generale di sperimentazione.

Per ogni prova si sceglieva una serie di capsule Petri in ciascuna delle quali venivano posti due fogli di carta bibula; su questi si versava poi una certa quantità di una soluzione metallica a concentrazione determinata; quindi in ogni capsula, contrassegnata col simbolo e la concentrazione del metallo in essa contenuto, si distribuiva un determinato numero di semi di ricino preventivamente lavati con cura.

La serie di capsule, così preparata, veniva poi lasciata alla temperatura ambiente o messa in termostato, a seconda della stagione; durante questo periodo si continuava ogni 1-2 giorni ad aggiungere alle capsule qualche cc. alternativamente di acqua dist. e della rispettiva soluzione metallica, in modo da tenere sempre un grado di umidità opportuno alla germinazione e allo sviluppo dei semi, senza alterare notevolmente la concentrazione. Inoltre si avevano tutte le cure possibili per prevenire e curare

l'ammuffimento dei semi che, durante il periodo di loro permanenza in capsula, era assai frequente ⁽¹⁾.

Dopo 12-15 giorni, in genere, quando cioè parte dei semi aveva germinato e le piantine nate avevano raggiunto uno sviluppo conveniente, esse venivano ben lavate e poi messe in bicchieri (generalmente da 150 cc.) in modo che la parte radicale fosse immersa in soluzione nutritizia di Pfeffer o in soluz. metallica, soluzioni che venivano poi regolarmente cambiate ogni 4-5 giorni fino alla fine dell'esperimento.

Per le prime 4 prove si metteva in ogni bicchiere una certa quantità di soluz. di Pfeffer (sciolta il più delle volte in 6-8 litri di acqua dist.) e poi vi si aggiungeva qualche cc. di soluzione M/100 del rispettivo metallo, in modo da avere, tenendo conto della diluizione portata dalla soluz. di Pfeffer, una soluzione metallica a concentrazione M nota. Nelle prove successive invece — per non incorrere nel rischio che qualche metallo, a contatto con la soluz. di Pfeffer, precipitasse o comunque non agisse regolarmente in rapporto alla sua concentrazione — è stato usato un altro sistema in verità più razionale: si tenevano le piantine immerse alternativamente per 4-5 giorni in soluz. di Pfeffer e per 4-5 giorni, più raramente 6, nella rispettiva soluz. metallica. In tal modo si era certi che a ciascun metallo fosse assicurato il suo effetto.

Naturalmente, prima di cambiare le soluzioni, tanto i bicchieri che le piantine venivano accuratamente lavati.

(1) Le cure consistevano principalmente nel togliere i semi molto ammuffiti, nel lavare bene quelli che erano soltanto all'inizio dell'ammuffimento, nel sterilizzare, per quanto era possibile, con ferri roventi i punti della carta bibula dove i semi poggiavano e, certe volte, nel cambiare addirittura la carta stessa in tutte le capsule e nell'aggiungere di nuovo le rispettive soluzioni.

Dopo 12-15 giorni, dacchè le piantine erano state messe nei bicchieri — quando cioè esse avevano raggiunto complessivamente i 14-16 cm. di lunghezza e portavano foglie cotiledonari bene espanse, mentre già stava iniziandosi lo sviluppo del germoglio centrale —, le piantine stesse venivano inoculate con *B. tumefaciens*, appena sotto alle due foglie cotiledonari.

Per quanto riguarda la tecnica di inoculazione dobbiamo rilevare quanto segue.

Nelle *prime due prove* il batterio è stato prelevato man mano, con l'ansa, da una coltura in tubetto di agar di brodo e introdotto, con l'ansa stessa, nella ferita fatta in ciascuna piantina con una lancetta, forando da parte a parte il fusticino sotto le foglie cotiledonari.

Nelle *successive 5 prove* (dalla III alla VII comprese) ho invece preferito raccogliere tutta la patina della coltura in una scodellina, mescolandola intimamente con qualche goccia di acqua dist. sterile in modo da farne una sospensione molto densa e omogenea; immergevo poi una lancetta in questa sospensione e la inoculavo direttamente, forando il fusticino da parte a parte e facendo passare a più riprese la lancetta stessa nella ferita, onde assicurare una più abbondante disseminazione dei germi nell'interno dei tessuti.

Nell'*VIII prova*, e in tutte le successive, ho apportato al metodo ora descritto due modificazioni. Ho preferito servirmi, anzichè della patina che si sviluppa nei tubetti di agar di brodo, della spessa membrana batterica che si forma alla superficie delle brodoculture di *B. tumefaciens*, perchè quest'ultima è più abbondante e più facile a raccogliersi; dopo averla raccolta e intimamente mescolata, in modo da garantirne l'omogeneità in tutte le sue parti, essa veniva divisa in altrettante scodelline quanti erano i

metalli coi quali avevo trattato le piantine di ricino; ciò allo scopo di evitare la possibilità che quelle piccole quantità di succo di ricino che aderivano alla lancetta dopo ogni inoculazione — introdotte volta per volta nella patina, dopo avere inoculato tutta una partita di piantine trattate con un determinato metallo — facessero sentire una influenza, sia pur piccola, sul restante dei germi che dovevano essere inoculati in altre partite di ricini trattate con metalli diversi. Infatti era logico pensare che, non dividendo la patina in altrettante porzioni quante erano le diverse partite di ricini da inoculare, la parte residuale di patina che doveva servire ad infettare le ultime partite di ricini, avrebbe potuto essere influenzata, forse anche notevolmente, dalle piccole quantità di succo in essa portate durante l'inoculazione di tutti i precedenti gruppi di piante.

Ho creduto opportuno diffondermi un pò dettagliatamente su questa, del resto molto semplice, tecnica di inoculazione, perchè l'esperienza di questo lavoro mi ha insegnato quanta importanza abbia tale operazione nel favorire o meno l'attecchimento uniforme e il successivo sviluppo dei tumori; infatti la tecnica di inoculazione — insieme all'età delle piantine, alla zona del tessuto nella quale si effettua la inoculazione, alla temperatura, ecc. — è una delle più importanti cause d'errore che possono farsi sentire notevolmente sui risultati.

Tuttavia si comprende che, per quanto si potesse perfezionare la tecnica al fine di garantire una maggiore uniformità ed attendibilità di risultati, le prove potevano essere disturbate da *fattori individuali* che non avrebbero potuto essere riconosciuti e valutati se non con un notevole numero di prove, ciascuna delle quali si espletasse su buon numero di individui. Gli esperimenti in parola hanno in-

fatti dimostrato che ricini della stessa specie e della stessa partita, si presentano talora resistenti a quantità relativamente forti di determinati metalli (ad es. Hg, Co, Cd, ecc.), mentre se ne trovano altri che non ne tollerano se non quantità ben più piccole; parimenti vi sono piantine di ricino di una stessa specie che si presentano, per *risorse individuali*, nettamente più resistenti della generalità all'attacco dei parassiti in genere e del *B. tumefaciens* in specie; di qui soprattutto la necessità di una lunga sperimentazione che permettesse di avere a disposizione numerosi dati e grandi medie di risultati.

Dopo 20-30 giorni dall'inoculazione — periodo che, a seconda della stagione e di altre circostanze che influivano sul più o meno rapido accrescimento dei tumori, permetteva di ottenere neoplasmi di una certa grossezza — si procedeva all'esame dello sviluppo raggiunto dai tumori nei vari gruppi di ricini o attraverso una valutazione complessiva dell'intensità dell'attacco (V^a prova) o, più frequentemente, attraverso una approssimata misurazione delle dimensioni dei tumori stessi.

Accenno rapidamente alle prove fatte.

Prova I. — (16-VI-1933, 10-VIII-1933) ⁽¹⁾.

Sono state preparate, nella maniera avanti indicata n. 19 capsule, ed in ciascuna di esse sono stati messi 8 cc. della soluzione M/1000 del nitrato di uno dei 18 metalli suddetti; nella 19^a capsula, che serviva di controllo, è stata messa acqua dist. nella stessa misura. In ognuna delle capsule sono poi stati posti 10 semi di ricino perchè, insieme con l'acqua necessaria alla

(¹) Le due date che figurano tra parentesi all'inizio di ogni prova corrispondono: la prima al giorno in cui la prova è stata cominciata, la seconda al giorno in cui sono stati rilevati i risultati dell'intensità dell'attacco.

germinazione, assumessero anche il relativo catione contenuto in soluzione.

La serie delle capsule così preparata è stata lasciata in laboratorio, dove la temperatura ha oscillato intorno ai 25° C, ed è stata coperta con un panno nero perchè le germinazioni avvenissero all'oscuro o a luce attenuatissima in conformità di quanto avviene nel terreno.

Dopo 12 giorni le piantine nate sono state messe in altrettanti bicchieri ed alimentate con 120 cc. di soluzione di Pfeffer diluita (in 12 litri di acqua distillata) contenente, per ogni bicchiere, il 0,8 % circa della soluzione M/100 del rispettivo nitrato metallico, di modo che il metallo vi era contenuto in soluzione approssimativamente M/12500. Tali soluzioni come si è detto, venivano cambiate ogni 4-5 giorni in tutti i bicchieri.

Dico subito, che tutte le piantine sviluppatesi nella soluzione di Hg, erano morte poco dopo la germinazione, quando ancora le foglie non erano uscite dai cotiledoni; le radici erano quasi completamente annerite ed apparivano quasi consunte.

Dopo 19 giorni, dacchè le piantine erano state messe nei bicchieri, quando cioè erano giunte ad un giusto sviluppo (circa 13 cm. di altezza in media) esse sono state inoculate con una coltura pura di *B. tumefaciens* nella maniera già descritta (v. pag. 498).

Dopo 23 giorni, dall'inoculazione, si sono notate le seguenti differenze fra i tumori di ciascuna partita di ricino.

1) Controllo (5) ⁽¹⁾ presentava piantine a sviluppo normale ed in buone condizioni vegetative, portanti tumori piuttosto piccoli che misuravano circa 4-6 mm. di diametro in media.

2) Al (5), Li (5), U (5), Zr (6), K (3), Sr (4), presentavano piantine e tumori praticamente uguali al controllo, sia per grado di sviluppo che per stato di conservazione.

(1) Il numero tra parentesi che segue ogni simbolo rappresenta, tanto per questa prova come per tutte le successive, il numero di piantine superstiti in ogni bicchiere al momento dell'osservazione,

3) Ag (4), Cd (5), Cu (6), Pb (7), Pd (3), presentavano piantine con tumori *notevolmente più grandi* che il controllo.

Vale la pena di accennare allo stato delle piantine in sè e per sè ed in relazione ai neoplasmi.

Nell' Ag le piantine erano in buono stato come nel controllo, ma con radici leggermente annerite; i tumori erano marcatamente più grandi che nel controllo e misuravano in media 8-10 mm. di diametro.

Nelle colture in Cd le piantine si presentavano invece assai sofferenti sia, e specialmente, nell'apparato radicale (prima annerito e poi quasi completamente distrutto), sia nella parte aerea, che portava foglioline più piccole, più scure e più rossastre del normale. I tumori invece, nonostante il deperimento generale delle piantine, si erano sviluppati assai bene ed avevano raggiunto la media di 7-9 mm. di diametro; i fusticini, ormai, privi, di foglie e di radici, avevano assunto quasi la forma di *clava* con la parte ingrossata in alto, in corrispondenza dei tumori.

Il Cu aveva dato luogo a fenomeni simili a quelli rilevati nel Cd, ma più attenuati, sia per quanto riguarda lo stato delle piantine, generalmente in migliori condizioni, sia per la dimensione dei tumori, che avevano in media raggiunto i 6-7 mm. di diametro.

Il Pb ed il Pd presentavano piantine in condizioni vegetative pressochè uguali a quelle del controllo, specialmente il Pb; i tumori erano ancora leggermente esaltati rispetto al controllo e raggiungevano in media i 6-7 mm. di diametro.

4) Ce (4), Fe (7), Th (5), presentavano piantine in buono stato come il controllo, ma portanti tumori *leggermente depressi* in confronto al controllo stesso, in quanto raggiungevano in media soltanto i 3-5 mm. di diametro. Il Fe presentava piantine con radici piuttosto annerite, ma sane.

5) Co (2), presentava piantine assai depresse ed a basso turgore, con foglie in parte tendenti al giallo, in parte al ros-

sastro e radici quasi completamente distrutte, seppure non molto annerite; *i tumori non si erano sviluppati affatto*,

6) Zn (6), Ba (1), presentavano piantine in buono stato come il controllo; nello Zn le radici erano leggermente annerite, ma sane. Circa lo sviluppo dei tumori l'effetto era rimasto *dubbio*, perchè nel caso dello Zn, su 6 piantine, ve ne erano 5 con tumori appena visibili, misuranti 3-4 mm. di diametro, ed una invece con un tumore assai sviluppato, che raggiungeva i 9 mm. di diametro; nel caso del Ba, invece, era rimasta un'unica piantina che portava un tumore ben sviluppato, misurante 9 mm. di diametro.

Prova II. - I. Serie (18-VIII-1933, 8-X-1933), **II. Serie** (5-IX-1933, 3-X-1933).

È stata impiantata nello stesso modo della prima, con le sole seguenti differenze: 1) sono stati messi in ciascuna capsula 10 cc. della soluzione M/1000 di uno dei 18 nitrati usati nella prima prova, anzichè 8 cc. della soluzione M/1000 del rispettivo metallo; 2) ogni capsula conteneva 15 semi anzichè 10.

Dopo 2-3 giorni, forse a causa dell'alta temperatura, ha cominciato a svilupparsi, in alcune capsule, un attacco di *Rizopus* così intenso, che inutilmente si è tentato di arrestarlo, ricorrendo ai mezzi cui si è accennato più sopra; perciò dopo 18 giorni, dall'impianto della prova, si sono dovute rifare le capsule dei seguenti metalli: Ag, Zn, Fe, Hg, Cu, Pb, Cd, Ba, Controllo.

Questa prova si è pertanto divisa in *due serie* di capsule che s'integravano a vicenda, relativamente alla qualità dei trattamenti: la *prima serie* era costituita dai seguenti metalli: Th, Li, Sr, Zr, U, Co, Al, K, Ce, Pd e dal vecchio controllo; la *seconda serie* era invece costituita dai metalli elencati poc' anzi e dal nuovo controllo.

Prima serie. - Le piantine che erano rimaste sane sono state messe, dopo 12 giorni dalla semina, nei bicchieri conte-

nenti 120 cc. di soluzione di Pfeffer (in 12 litri) al 0,8 ‰ della soluzione M/100 del rispettivo metallo; soltanto la soluzione M/100 di Hg — data la forte tossicità che questo metallo aveva mostrato sulle piantine durante la prima prova — è stata aggiunta alla soluzione di Pfeffer in proporzione del 0,4 ‰ anziché del 0,8 ‰, di modo che il sale mercurico vi era contenuto in soluzione pressochè M/25000.

Col proseguire della prova diverse altre piantine morirono e, fra l'altre, tutte quelle trattate con Li e con Pd, tanto che, per questa volta, si è dovuto rinunciare ai risultati relativi a questi due metalli.

Le piantine superstiti, dopo 36 giorni dalla semina, sono state inoculate con *B. tumefaciens* e poi messe in termostato luminoso (sotto campana di vetro) a circa 25° C, per favorire lo sviluppo dei tumori; inoltre, per rinvigorire le piantine che si presentavano piuttosto depresse, esse sono state lasciate per 5-6 giorni, dell'inoculazione, nella sola soluzione di Pfeffer, senza l'aggiunta del rispettivo metallo.

Dopo 16 giorni, dall'inoculazione, sono stati osservati i seguenti risultati:

1) Controllo (6), presentava piantine in buono stato con tumori che misuravano in media 6-8 mm. di diametro.

2) Sr (4), U (2), Zr (5), K (1), Ce (1), presentavano piantine in buone condizioni come il controllo, ma con tumori *nottevolmente più grandi*, che misuravano 10-11 mm. in media di diametro. Per il K e il Ce, poichè in ognuno di essi era rimasta una sola piantina, il risultato di questa prova è rimasto *dubbio*.

3) Th (2), presentava piantine in buono stato come il controllo, ma con tumori *notevolmente più grandi* misuranti 8-10 mm. in media di diametro.

4) Al (2), presentava piantine in buono stato come il controllo, ma con tumori un *poco più piccoli*, che raggiungevano appena il 5-6 mm. in media di diametro.

5) Co (2), presentava piantine assai depresse in condizioni simili in tutto a quelle che, nella precedente prova, erano state trattate con lo stesso metallo; anche questa volta *i tumori non si erano sviluppati affatto*.

Seconda serie. — Anche le piantine di questa serie hanno subito qualche attacco di *Rizopus*, ma molto meno intenso del precedente, tanto che si è potuto in gran parte salvarle ed allevarle.

Dopo 13 giorni, dalla semina in capsula, esse sono state messe nei bicchieri e questi tenuti in un altro termostato luminoso regolato, come il precedente, a circa 25° C. Dato che anche le piantine di questa serie erano stentate e sofferenti, specie al sistema radicale, sono state anch'esse tenute per 5-6 giorni in semplice soluzione di Pfeffer, per agevolarne la ripresa.

Dopo 21 giorni dalla semina si è proceduto all'inoculazione col *B. tumefaciens*; ma dopo 7 giorni dall'inoculazione — per cattivo funzionamento del termostato, in seguito a cui le piantine avevano subito qualche alterazione — si è dovuto interrompere la prova, e poichè già era evidente qualche differenza nello sviluppo dei tumori, si è potuto notare i risultati seguenti:

1) Controllo, presentava piantine piuttosto striminzite, con piccoli tumori misuranti 3-4 mm. in media di diametro.

2) Cd, presentava piantine più basse del controllo e di colore verde-rossastro scuro; i tumori erano *nettamente più grandi* e più allungati che nel controllo e misuravano 5,5-7 mm. in media di diametro.

3) Zn, Pb, Ba, presentavano piantine in migliori condizioni del controllo, con tumori *notevolmente più grandi* che nel controllo stesso (specialmente nello Zn e nel Pb) e misuranti 5-6 mm. di diametro.

4) Cu, presentava piantine che avevano gli stessi caratteri di quelle in Cd, ma ben più attenuati; i tumori erano ancora *abbastanza esaltati*, in confronto al controllo, in quanto raggiungevano i 4,5-5,5 mm. in media di diametro.

5) Ag, Hg; nel primo le piantine erano in migliori condizioni che nel controllo; nel secondo invece esse erano molto simili per colore, dimensioni e stato di conservazione a quelle in Cd; i tumori dei due gruppi di piantine erano *leggermente esaltati*, in confronto al controllo, e misuravano 4-5 mm. in media di diametro.

6) Fe, presentava piantine in migliori condizioni che nel controllo, con tumori praticamente *uguali*, forse assai leggermente esaltati, in quanto misuravano 3,5-4,5 mm. in media di diametro.

Ogni bicchiere di questa serie conteneva dalle 5 alle 10 piantine.

I quadri complessivi della prima e della seconda prova presentano dei dati che sono molto significativi, essendo nelle due prove in notevole accordo sia per quanto si riferisce allo sviluppo dei tumori, sia per ciò che riguarda lo stato di conservazione delle piantine.

Infatti se, sullo sviluppo del tumore, si considera da un lato l'azione più o meno marcata, ma concordemente *eccitante* dimostrata dal Cd, dal Cu, dall'Ag, dal Pb, dal Ba, e dall'altro lato l'assoluta azione *inibente* lo sviluppo del tumore dimostrata dal Co ⁽¹⁾, si ha ragione di pensare che questi eccitamenti e queste depressioni non siano solamente collegate con l'influenza eccitativa o depressiva dei tessuti in genere, sullo sviluppo dei tumori stessi, ma vi sia stata invece una diretta azione da parte dei suddetti metalli sia nel deprimere o nell'esaltare le capacità difensive della pianta di fronte all'aggressione

(¹) Si osservi inoltre la uniformità di comportamento che gli stessi metalli hanno avuto, nelle due prove, anche sulle piantine di ricino.

del parassita, sia nell' eccitare o contrastare direttamente lo sviluppo del tessuto neoplastico in sè e per sè.

In ogni modo restava tuttavia il dubbio se si trattasse principalmente di un' azione dei metalli sulla resistenza della pianta ospite o non piuttosto di un' azione da essi esercitata direttamente sul batterio coll' esaltarne o col deprimerne la vitalità e la virulenza o anche, finalmente, se non si trattasse di un' azione complessa, esplicantesi su entrambi gli organismi.

Per tentare di scindere e studiare separatamente questi diversi effetti, era anzitutto necessario conoscere quale influenza i metalli fin qui usati esercitassero direttamente sul *B. tumefaciens* in coltura.

Prova I. - *Sulla influenza dei metalli sullo sviluppo del B. tumefaciens in coltura.*

Dobbiamo anzitutto premettere che non era possibile aggiungere le soluzioni metalliche direttamente al brodo di carne agarizzato, perchè in tal caso diversi, fra i metalli usati, sarebbero precipitati sotto forma di albuminati o di altri composti del genere, portando così ad errori fondamentali nel rilievo dei risultati.

Per ovviare a questo inconveniente è stato pertanto usato il seguente metodo.

Sono stati preparati, entro 18 tubetti da saggio, 2 cc. di una soluzione M/20000 di ciascuno dei 18 metalli già usati nelle prove sul ricino; un 19° tubetto, contenente due cc. di acqua distillata, serviva di controllo.

I 19 tubetti sono stati sterilizzati curando che non si alterasse la concentrazione delle soluzioni e, in ognuno di essi, è poi stata portata un' ansata di patina batterica prelevata da

un' unica coltura fresca del batterio (su agar di brodo glucosato all' 1 ‰).

L' operazione di semina del batterio nei tubetti contenenti le soluzioni dei diversi metalli, curata col massimo scrupolo, è stata fatta nel seguente ordine: Pd, Cu, Hg, Pb, Controllo, Ag, Cd, Co, Ba, Zn, Al, Fe, K, U, Li, Sr, Th, Zr, Ce. Terminata la semina ogni tubetto è stato bene agitato al fine di avere una sospensione batterica il più possibile omogenea, e poi la serie di tubetti è stata lasciata a circa 15° C per 8 ore e mezzo per dare tempo ai vari metalli di esercitare una sufficiente influenza sui germi.

Trascorso il tempo suddetto si è cominciato a fare gli strisci, di ciascuna delle 19 sospensioni batteriche, su tubetti di agar di brodo glucosato all' 1,5 ‰, portando in ciascun tubetto 2-3 grandi ansate di sospensione batterica preventivamente bene agitata; per ogni metallo sono stati così preparati 3 tubetti di agar di brodo, poi tutti quanti i tubetti (57) sono stati messi in termostato a circa 28° C per rendere più rapido lo sviluppo del batterio.

Anche l' operazione degli strisci è stata fatta con la massima cura onde evitare inquinamenti da parte di batteri banali che avrebbero così frustrato i fini della ricerca.

Dopo circa 2 giorni e mezzo, dalla preparazione degli strisci, lo sviluppo del batterio era già comparso più o meno intenso ed evidente nei 3 tubetti del controllo e dei seguenti metalli: Ba, Pb, Zr, Ce, Li, U, Th, Al, anzi in qualcuno di essi — specie nel controllo, nel Ba e nel Pb — lo sviluppo era già abbastanza avanzato.

Dopo 4 giorni circa, dalla preparazione, lo sviluppo si manifestava anche nel Pb, nel Co, nel Fe, sebbene un po' meno intenso che nei precedenti; dopo 5 giorni si manifestava in due tubetti del K, dopo 6 giorni in due tubetti dello Zn, dopo 7 giorni in uno dello Sr, ma sempre con decrescente intensità, pro-

porzionale al ritardo nell'inizio di sviluppo; nello Sr poi lo sviluppo, comparso su uno solo dei 3 tubetti, era leggerissimo e si limitava ai margini del substrato.

Nei 3 giorni successivi, e cioè dal 7° al 10° giorno, lo sviluppo è andato intensificandosi vieppiù dove già si era iniziato, senza che peraltro si iniziasse in nessun nuovo tubetto.

Dopo 10 giorni il batterio ha cominciato a svilupparsi ai margini di 2 tubetti di Cd, dopo 11 giorni ha iniziato anche ai margini del 3° tubetto di Cd, dopo 12 giorni ha iniziato ai margini del 3° tubetto di K.

Le culture che avevano iniziato il loro sviluppo dal 7° giorno in poi si andavano man mano estendendo, ma con ritmo ben più lento che quelle dei tubetti in cui lo sviluppo era apparso nei primi giorni dopo la semina; dunque si trattava di un netto ritardo, sia nell'apparire che nel crescere, delle colture che avevano subito il trattamento di quei determinati metalli (Cd, Sr Zn, K).

Dopo un'altra settimana, e cioè dopo 20 giorni dacchè la, prova era stata impiantata, furono tolti dal termostato tutti i tubetti senza che in alcun altro di essi fosse comparso lo sviluppo del batterio. Erano rimasti sterili i seguenti tubetti: 1 di Zn, 2 di Sr e rispettivamente i 3 di Hg, di Cu e di Ag; questi 3 ultimi metalli si erano dunque mostrati *i più tossici* sul batterio perchè, sebbene in soluzioni molto diluite, mostravano di averlo devitalizzato in sole 8-9 ore.

Mettendo ora a raffronto i risultati ottenuti nelle due prove di inoculazione dei ricini e quelli ottenuti nella prova di coltura del batterio su substrato morto, ci si trova di fronte a due gruppi di fenomeni veramente singolari ed opposti. Infatti da un lato si osserva *che tanto l'Ag, il Cu e il Hg* — i quali pur in bassissime concentrazioni, hanno dimostrato una *assoluta tossicità* sul bat-

terio — *quanto il Cd e lo Sr* — i quali hanno esercitato una *nettissima depressione* sullo sviluppo del batterio stesso — *sono proprio quegli stessi metalli che più marcatamente* — sebbene in concentrazioni pressochè doppie di quelle usate direttamente sul batterio — *hanno influito*, agendo attraverso i vasi ed i tessuti della pianta, *sul tumore, esaltandone lo sviluppo* in confronto ai controlli. D'altro lato si osserva che *il Co*, mentre ha *permesso benissimo* lo sviluppo del batterio in cultura, *è stato invece l'unico metallo*, che, nelle due prove eseguite, *non abbia permesso affatto lo sviluppo del tumore* sui ricini inoculati.

Limitiamoci per ora a constatare questi fatti rimandandone la spiegazione in seguito, quando un più ampio, indispensabile corredo di dati sperimentali ci consenta di meglio orientarci.

In considerazione dunque di quanto è stato esposto si è ritenuto opportuno estendere maggiormente la ricerca nel campo degli effetti esercitati sullo sviluppo del *B. tumefaciens* in cultura da quei metalli che si erano mostrati più interessanti per il loro singolare comportamento. E precisamente si è voluto vedere, da una parte, a quale concentrazione il Co cominciasse ad essere tossico sul batterio, dall'altra, a quale diluizione i metalli, che si erano maggiormente mostrati tossici sul batterio stesso, perdesero o attenuassero tale loro tossicità.

È pertanto stata impiantata la seguente prova.

Prova II. — *Sulla resistenza del B. tumefaciens alle soluzioni metalliche più significative, usate in concentrazione varia.*

È stato usato lo stesso metodo sperimentale descritto nella prova precedente e sono stati presi in considerazione il Co, il Cu, l'Ag, il Hg, il Cd e lo Sr nelle concentrazioni *M* che ora trascrivo, seguendo addirittura l'ordine di disseminazione del

batterio nelle soluzioni stesse: Controllo (in acqua distillata), Co M/5000, Cd M/250000, Cu M/250000, Ag M/250000, Hg M/250000, Sr M/250000, Co M/1000, Hg M/50000, Ag M 50000, Cu M/ 50000, Cd M/50000, Sr M/50000, Co M/600.

Il batterio è stato prelevato da una coltura di agar di brodo, la cui patina è stata preventivamente radunata con l'ansa nel centro del tubetto e poi bene mescolata per renderla il più possibile omogenea prima della disseminazione.

Dopo 8 ore, dacchè tale operazione era stata compiuta, sono stati fatti gli strisci su 3 tubetti di agar di brodo per ognuno dei 14 trattamenti suddetti, ed è stato seguito lo stesso ordine già seguito nella disseminazione, soltanto che il controllo, dal suo posto primitivo, è stato spostato fra lo Sr M/250000, e il Co M/1000. La serie dei tubetti è poi stata messa in termostato a circa 28° C.

Dopo due giorni il batterio si era sviluppato ugualmente bene in tutti i tubetti ad eccezione che in quelli del Co M/600 — dove lo sviluppo era un poco meno abbondante che nei precedenti — e in quelli del Hg, dove non si notava ancora nessuno sviluppo.

Dopo altre 24 ore lo sviluppo del batterio trattato con Co M/600 aveva quasi raggiunto quello degli altri tubetti ed inoltre esso si mostrava abbastanza avanzato anche nei 3 tubetti del Hg M/250000.

In seguito questi tubetti hanno proseguito il loro sviluppo e dopo 19 giorni, dall'inizio della prova, sono stati, insieme a tutti gli altri, tolti dal termostato; il batterio si era sviluppato in maniera pressochè uguale in tutti i tubetti, pur restando leggermente più indietro nei tubetti del Co M/600 e Hg M/250000. *Soltanto i 3 tubetti del Hg M/50000 erano rimasti perfettamente sterili.*

Dopo questi risultati appariva tanto maggiormente necessario ed interessante riprendere la sperimentazione dell'influenza dei metalli sopra lo sviluppo dei tumori, perchè i risultati delle due prime prove avevano bisogno dell'appoggio di un numero ben maggiore di dati sperimentali per poter dare di essi una attendibile spiegazione.

Pertanto è stata fatta una numerosa serie di prove che, come è stato già detto, hanno leggermente variato da una all'altra, a seconda dell'opportunità di mettere in evidenza ora questo ora quel dettaglio, che potevano meglio illuminare il complesso fenomeno generale.

Prova III. - (25-IX-1933, 8-I-1933).

È stata preparata una serie di capsule perfettamente uguale alla prova II^a, però questa serie di capsule, essendosi ormai abbassata parecchio la temperatura, è stata messa in termostato a 28° C. Dopo 3 giorni sono stati aggiunti, ad ogni capsula, 5 cc. della rispettiva soluzione metallica e dopo altri 2 giorni le capsule stesse sono state umettate con 5 cc. di acqua distillata, per supplire alle perdite dovute all'evaporazione.

Dopo 15 giorni, dalla semina, i semi germinati sono stati tolti dal termostato e messi nei coperchi delle capsule rispettive riempiti a metà con soluzione di Pfeffer (sciolta in 10 litri), per dar così modo alle piantine di svilupparsi meglio, sfuggendo all'attacco delle numerose muffe che si erano già sviluppate nelle capsule chiuse, nonostante le cure usate per evitarlo.

Dopo altri 7 giorni le piantine sono state messe nei bicchieri con 100 cc. di soluzione di Pfeffer al 2 % dei rispettivi nitrati metallici M/100 (cioè in soluzione circa M/5000, rispetto al metallo). Soltanto il Co è stato aggiunto alla soluzione di Pfeffer in proporzione dell'1 %, talchè, rispetto ad esso, la soluzione era M/10000. I bicchieri poi sono stati tenuti nei soliti termostati luminosi a circa 27° C; le soluzioni sono state in seguito

rinnovate ogni 4-5 giorni come al solito, però nei bicchieri con Cd e con Hg (in un primo tempo) e in quelli con Cu e con Pd (in secondo tempo) sono state messe soluzioni di Pfeffer diluite più del doppio rispetto ai metalli stessi (pressochè M/12000), al fine il deteriorare il meno possibile le piantine, specie all'apparato radicale.

Dopo 26 giorni, dall'inizio delle prova, è stato inoculato il batterio col metodo già descritto (v. pag. 498) e dopo altri 18 giorni sono stati osservati i risultati seguenti:

1) Controllo, presentava piantine in discreto stato vegetativo, portanti tumori di 6-8 mm. di diametro.

2) Th, Al, U, presentavano piantine e tumori pressochè *uguali* al controllo.

3) K, Ce, Fe, presentavano piantine in discreto stato, con tumori di 9-10 mm. di diametro (*netta esaltazione*); il Fe, aveva prodotto l'annerimento delle radici senza però alterarle.

4) Li, Zr, Ba, Pd, Pb, presentavano tumori di 8,5-9,5 mm. di diametro (*notevole esaltazione*). Nel Li, Ba e Pb, le piantine erano in discrete condizioni; nello Zr le piantine avevano radici un poco alterate; nel Pd le piantine erano defogliate e con radici completamente consunte.

5) Zn, Sr, presentavano tumori di 8-9 mm. di diametro (*leggera esaltazione*). Nello Zn le piantine erano defogliate e con radici un poco alterate; nello Sr, invece le piantine erano in discreto stato.

6) Ag, Hg, Cd, Cu, presentavano tumori di mm. 5-7 di diametro (*leggera depressione*). Nell'Ag le piantine erano in discreto stato; nel Hg le piantine avevano foglie secche e tumori piuttosto risecchiti; nel Cd e nel Cu le piantine erano quasi completamente defogliate e con radici pressochè consunte nel Cd e molto alterate nel Cu.

7) Co, presentava tumori che raggiungevano appena i 2,5-4 mm. di diametro (*marcata depressione*). Le piantine erano

in condizioni vegetative assai migliori che nelle 2 prove precedenti; tuttavia esse apparivano un poco depresse e con radici piuttosto alterate.

A questo punto gli effetti più interessanti erano certamente quelli manifestati dal Co, sia per la loro *continuità* sia per la loro singolare capacità di *deprimere così energicamente* la formazione del tumore o, più probabilmente, di esaltare in maniera tanto marcata la resistenza del ricino all'infezione del *B. tumefaciens*, tantopiù che il metallo non si era mostrato *affatto dannoso sul batterio* stesso.

Il Pb, il Ba, l'Ag, lo Sr, lo Zn, lo Zr, il Pd, il Cu, il Cd, si sono invece mostrati più o meno notevolmente *eccitanti* sulla formazione del tumore, ma non con quella continuità e quella intensità di effetti che caratterizzano un fenomeno ben netto e indiscutibile.

Fra questi metalli il Pb, il Ba, il Pd, lo Zr sono apparsi anche *favorevoli* o, almeno, *indifferenti* allo sviluppo del batterio in cultura; l'Ag, lo Sr, lo Zn, il Cu e il Cd invece si sono mostrati più o meno energicamente *deprimenti* sullo sviluppo del batterio stesso. E' stato appunto, più che altro, questo contrasto che, come si è già avuto occasione di rilevare, è sembrato interessante.

La constatazione che quasi tutti i metalli, che erano apparsi più fortemente tossici sul batterio, e principalmente il Cd e il Hg, avevano anche manifestato una netta tossicità sulle piantine di ricino — tanto che lo stato di depressione e di alterazione di queste non aveva loro dato modo di alimentare lo sviluppo del tumore — faceva supporre che, se le piantine fossero state in migliori condizioni vegetative, sì da potere meglio nutrire il tumore stesso, lo sviluppo di questo avrebbe potuto raggiungere

proporzioni ben più notevoli di quelle raggiunte e forse anche divenire decisamente superiore a quello raggiunto dal controllo.

Perciò dal momento che, in genere, l'alterazione delle piantine diveniva grave soltanto dopo qualche giorno che esse erano state messe nei bicchieri, si è pensato di poter mettere più chiaramente in evidenza l'eccitazione prodotta dai metalli sullo sviluppo dei tumori, *anticipando* il più possibile la data di inoculazione.

Ciò è stato fatto nella IV^a prova, che passo a descrivere.

Prova IV. — (21-X-1933, 11-XI-1933).

Questa volta l'esperimento è stato ristretto ai soli metalli che avevano dato fin qui gli effetti più vistosi; essi sono stati usati nelle seguenti diluizioni che sembravano le più indicate a rivelarne il comportamento: Ag M/500 e M/1000; Sr, Cu, Cd, Ba, Zn nelle 3 seguenti diluizioni: M/500, M/1000 e M/20000; Hg M/10000 e M/20000; Co M/10000, M/20000, M/50000 e M/100000; più i controlli.

La serie si componeva pertanto di 25 capsule ognuna delle quali conteneva 13 cc. della rispettiva soluzione metallica, più 20 semi di ricino; la serie così preparata è stata portata in termostato a 28°-29° C.

Dopo 5 giorni sono stati aggiunti, ad ogni capsula, 5 cc. della rispettiva soluzione metallica; dopo 2 giorni si sono aggiunti (ad ogni capsula) 12 cc. di soluzione di Pfeffer (in 6 litri di acqua), poi la serie completa è stata messa in termostato luminoso a circa 25° C.

Dopo 9 giorni dall'inizio della prova — quando cioè i semi avevano da pochi giorni iniziato il loro sviluppo e le foglie erano ancora racchiuse entro i cotiledoni — le piantine sono state inoculate appena sotto i cotiledoni stessi. In seguito sono stati

aggiunti, ogni 2-3 giorni, 13-14 cc. delle rispettive soluzioni metalliche, avendo cura di ristabilire man mano, con acqua distillata, lo stesso grado di umidità in tutte le capsule.

Dopo 13 giorni dall'inoculazione tanto le piantine che i tumori avevano raggiunto un discreto sviluppo e perciò si è proceduto alla constatazione dell'intensità dell'attacco. Ma non si sono constatate differenze apprezzabili tra i vari gruppi di piantine che avevano ricevuto i diversi trattamenti, in quanto lo sviluppo del tumore era pressochè uguale in tutti.

La prova non aveva dunque risposto al fine per cui era stata impiantata, ma, come si vedrà meglio in seguito, essa ha dimostrato che i metalli, prima di far sentire in maniera notevole la loro influenza sullo sviluppo del tumore, è necessario siano assorbiti e assimilati in *quantità sufficienti* dalle piantine. E ciò si dica tanto nel caso che siano i metalli stessi ad agire direttamente sul tumore, quanto, e soprattutto, nel caso che essi agiscano indirettamente sul tumore col dare origine a composti organici o metallorganici: questi composti svolgerebbero sul tessuto neoplastico un'azione apprezzabile soltanto se prodotti dall'ospite in quantità sufficienti.

Sono state pertanto riprese le solite prove, ma questa volta, per la ragione già spiegata da principio (v. pag. 498), si è avuto cura di non usare insieme soluzione di Pfeffer e soluzioni metalliche, ma di usare alternativamente ora l'una ora l'altra, cambiandole al solito ogni 4-5 giorni.

Prova V. - I. Serie (20-XI-1933, 28-XII-1933).

Anche in questa prova sono stati tralasciati alcuni dei metalli che erano apparsi meno significativi ed è stato aggiunto invece il Ni; pertanto i metalli usati sono stati i seguenti: Ni, Cu, Hg, Cd, Ba, Pb, Zn, Sr, Co, Pb, Fe, K. Ag.

Ogni capsula conteneva 14 cc. della soluzione M/1400 di uno dei suddetti metalli, e 15 semi.

La serie completa è stata messa in termostato a 28° - 29° C.

Dopo 9 giorni sono stati aggiunti ad ogni capsula 14 cc. di soluzione di Pfeffer (in 4 litri); dopo 11 giorni, dalla semina, le piantine sono state messe nei bicchieri ciascuno dei quali conteneva 200 cc. di soluzione di Pfeffer (in 8 litri), poi i bicchieri stessi sono stati portati a circa 23° C; dopo altri 4 giorni è stata sostituita la soluzione di Pfeffer con 150 cc. della rispettiva soluzione metallica pressochè M/10000, e così di seguito fino alla fine della prova, alternando ogni 4-5 giorni la soluzione di Pfeffer con la rispettiva soluzione metallica e viceversa.

Dopo 18 giorni, dalla semina, le piantine sono state inoculate e dopo altri 20 giorni sono stati rilevati i risultati seguendo un metodo sintetico di apprezzamento dell'intensità dell'attacco col tener conto dei *gradi di sviluppo* dei tumori, secondo l'ordine decrescente dal I° al IV° grado.

Sviluppo massimo I° grado Ba, Sr, Zn, Pb, Fe 1;

Sviluppo medio $\left\{ \begin{array}{ll} \text{II}^{\circ} & \gg \text{K, Cu, Ni, controllo 1;} \\ \text{III}^{\circ} & \gg \text{Cd, Controllo 2;} \end{array} \right.$

Sviluppo minimo IV° \gg Co, Ag 1, Ag 2, Fe 2, Ag, Pd.

Quanto allo stato delle piantine è da osservare che esse si presentavano, in genere, in discrete condizioni vegetative, sebbene non molto floride e spesso anche defogliate o portanti foglie un poco arrossate, verosimilmente a causa dell'allevamento in stagione non adatta allo sviluppo del ricino. Il numero delle piantine era compreso da 5 a 10 per ogni trattamento; soltanto nel Cd era rimasta una sola piantina assai malandata, ma portante il tumore abbastanza evidente.

II. Serie. - (20-XI-1933, 28-XII-1933).

Contemporaneamente alla prima serie ne è stata allestita una seconda pressochè uguale, con la differenza che i semi di ricino sono stati messi a germinare in 4 grandi capsule con sola acqua distillata; nei giorni successivi sono stati aggiunti, in

due riprese, 28 cc. di soluzione di Pfeffer (in 4 litri) per ogni capsula, e solo dopo che le piantine erano già sviluppate, cioè dopo 12 giorni dalla semina, sono state messe nei bicchieri contenenti 125 cc. ciascuno di soluzione M/10000 di uno dei 13 metalli usati nella prima serie. In seguito sono state sostituite alternativamente le soluzioni metalliche con la soluzione di Pfeffer (in 8 litri), seguendo sempre la stessa regola.

Dopo 20 giorni dalla semina è stata fatta l'inoculazione e dopo altri 18 giorni sono state rilevate le differenze di sviluppo dei tumori, usando lo stesso sistema di apprezzamento già adottato per la prima serie.

Sviluppo massimo	I°	grado	Ba, Pb, Zn, K ;
Sviluppo medio	II°	»	Fe, Cu, Sr, Pd ;
	III°	»	Controllo 1 ;
Sviluppo minimo	IV°	»	Ag 1, Controllo 2, Cd ;
Sviluppo zero	V°	»	Co, Ni, Ag 2, Ag.

Lo stato delle piantine era meno buono che quello della prima serie, in quanto esse si presentavano completamente defogliate o portanti foglie assai alterate ed ammuffite ; il loro numero era di 5-10 per ogni bicchiere, all'infuori che per il Hg e per il Ni, nei quali era rimasta una sola piantina piuttosto alterata.

Questa seconda serie di ricini è stata preparata sia per provare se le piantine si conservassero meglio facendo loro subire il trattamento quando già avevano raggiunto un certo grado di sviluppo che loro permettesse di meglio resistere, sia per vedere se il comportamento di queste piantine, di fronte all'infezione del *B. tumefaciens*, variasse in modo sensibile. Abbiamo invece constatato, da una parte, che la resistenza ai trattamenti metallici anzichè aumentata sembrava leggermente dimi-

nuita, in quanto mancava forse l'*assuefazione* graduale dei tessuti ai metalli fino dai primi stadi di loro vita, d'altra parte, che il comportamento delle piantine alle infezioni non era notevolmente cambiato.

Prova VI. - (I-II-1934, 9-III-1934).

Questa prova è stata ristretta a 4 fra i metalli più interessanti per i fenomeni *contrastanti* a cui avevano dato luogo nei riguardi dello sviluppo del tumore, in contrapposto con l'effetto esercitato da essi direttamente sullo sviluppo del batterio in cultura.

Sono stati dunque scelti il Co, il Cu, il Cd, e il Hg. È stato messo nel numero dei prescelti anche il Hg, sebbene non avesse fin qui dato effetti notevoli sui tumori, perchè, essendosi mostrato *il più tossico*, fra i vari metalli provati sul batterio in cultura — tanto che in soluzione M/50000 lo aveva completamente devitalizzato in poco più di 8 ore — si voleva vedere se, assorbito dalle piante in soluzioni molto diluite, riuscisse ad essere eccitante sulla formazione del tumore in rapporto al controllo; e ciò, come si vedrà in seguito, è stato infatti *riscontrato*.

Sarebbe stato anche interessante riprovare ancora l'azione del Pb, del Ba, dello Sr, dello Zr e dello Zn, perchè essi, nelle prove precedenti, avevano dato sempre effetti più o meno notevolmente *eccitanti* sullo sviluppo del tumore, in confronto al controllo; ma poichè si voleva studiare a fondo l'azione dei metalli prescelti sullo sviluppo del tumore, specie col provarne contemporaneamente gli effetti a *diluizioni varie*, non era possibile sperimentare su più di 3-4 metalli. D'altra parte i 5 metalli suddetti si erano mostrati fin qui *concordemente eccitanti* sullo sviluppo del tumore mentre, all'infuori dello Sr e un poco dello Zn, essi avevano non solamente *permesso* ma quasi favorito lo sviluppo del batterio in cultura.

Ma poichè uno dei fini principali di questo lavoro era di penetrare, per quanto possibile, la natura stessa della recettività e della resistenza del ricino al *B. tumefaciens*, col servirsi appunto di quei cationi che si fossero mostrati particolarmente adatti a questo scopo, si è dovuto anzitutto scegliere quelli, fra i cationi già usati, che permettevano di *scindere* facilmente quale fosse stata la loro azione sulla pianta e quale quella sul batterio.

Perciò mi sono limitato, come ho detto, al Co, Cu, Cd, e Hg, pensando di ritornare successivamente a sperimentare sul Pb, Ba, Sr, Zn, Zr, quando già fosse stato ben delineato l'effetto dei primi 4 metalli scelti per la prova.

Ciò è stato fatto e, alla fine di questo lavoro, è riportata la prova con i relativi risultati.

Ma tornando ai metalli in studio, devo aggiungere che essi sono stati scelti anche perchè si erano mostrati tutti più o meno nocivi alle piantine di ricino; questa *somiglianza di comportamento* nei riguardi dell'ospite, era infatti una maggiore garanzia di poter ottenere più attendibili dati comparativi, ciò che interessava soprattutto per aver modo di *controllare gli effetti deprimenti* esercitati dal Co sullo sviluppo tumorale.

D'altra parte la marcata *tossicità* di questi metalli, specie all'apparato radicale delle piantine, mi ha indotto questa volta ad usare — anzichè piantine provenienti da semi germinati in capsula — piantine allevate fino ad una certa altezza (14-18 cm.) in terra e poi *tagliate al colletto* e messe alternativamente nelle soluzioni metalliche e nella soluzione di Pfeffer.

A questo scopo sono state preparate 4 serie di 10 provette ciascuna, e in ogni provetta di ciascuna serie sono stati messi

25 cc. di una delle seguenti soluzioni metalliche: Cu M/5000, Cu M/50000, Cd M/5000, Cd M/50000, Co M/5000, Co M/50000, Hg M/5000, Hg M/50000, mentre nelle ultime 2 provette di ogni serie sono stati messi 25 cc. di acqua distillata perchè servissero di controllo. Si avevano così, complessivamente, 8 controlli e 4 provette per ciascun trattamento.

Ciascuna provetta è stata contrassegnata col simbolo del metallo e il grado di diluizione della soluzione in essa contenuta, poi in ognuna di esse è stata messa una piantina di ricino *tagliata al colletto*, come è stato detto sopra; le provette sono state chiuse con un tappo di cotone che portava infissa centralmente la piantina, al fine di poter regolare a piacere la lunghezza di immersione delle piantine stesse nelle rispettive soluzioni.

Il giorno dopo tutte le piantine sono state inoculate col batterio e poi tenute a circa 15° C.

Questa volta, trattandosi di piantine allevate in terra e poi tagliate quando già avevano iniziato lo sviluppo dei germogli, l'inoculazione è stata fatta *tra le due prime foglie del germoglio* stesso, anzichè sotto quelle cotiledonari come si è sempre fatto nel caso delle piantine germinate in capsula. Ciò valga anche per tutte le altre prove (IX-XI-XII) fatte con piantine seminate in terra e poi tagliate al colletto.

Dopo 5 giorni è stata sostituita in ogni provetta la soluzione metallica con 30 cc. di soluzione di Pfeffer (in 7 litri), e così è stato fatto successivamente alternando le due soluzioni fino alla fine della prova. Ogni volta che veniva cambiata la soluzione, oltre a lavare le piantine e i recipienti, si tagliava la parte basale di ogni piantina per favorire meglio l'assorbimento del liquido.

Dopo 40 giorni dall'impianto della prova, varie delle piantine erano morte e sulle restanti sono stati rilevati, pianta per pianta, gli ingrossamenti tumorali coi seguenti risultati:

			Media in mm.				Media in mm.
I	Controllo	tumore di 9 mm.	} 7,25	I	Co M/5000	tumore di 3,5 mm.	} 3,75
2	"	" " 6,5 "		2	"	" " 4 "	
3	"	" " 6 "		I	Co M/50000	" " 7 "	} 7
4	"	" " 7,5 "		2	"	" " 7 "	
I	Cu M/5000	" " 6 "	} 6	3	"	" " 7 "	
I	Cu M/50000	" " 6,5 "	} 8	I	Hg M/5000	" " 7,5 "	} 7
2	"	" " 9,5 "		2	"	" " 6,5 "	
3	"	" " 8 "		I	Hg M/50000	" " 6 "	} 6,5
I	Cd M/5000	" " 6 "	} 6	2	"	" " 7 "	
I	Cd M/50000	" " 8,5 "	} 7,5				
2	"	" " 6,5 "					

Nella misura dei tumori è compreso lo spessore del fusticino nel punto inoculato, spessore che era pressochè uguale in tutte le piantine e raggiungeva i 3,5 mm. circa. Pertanto, come ben si vede dalla tabella, lo sviluppo del tumore è stato quasi *nullo* nel caso del Co M/5000, mentre gli altri 3 metalli in soluzione M/5000 hanno permesso un *notevole sviluppo* del tessuto neoplastico sebbene restando, nella media, al disotto del controllo.

Per quanto riguarda la soluzione M/50000 vediamo, dalle medie, che il Cu è stato *notevolmente eccitante*, che il Cd sembra esser stato soltanto *leggermente eccitante*, mentre il Co e il Hg possono forse essere considerati come *lievemente deprimenti*.

Questa prova è stata esattamente ripetuta una seconda volta, ma, siccome le piantine usate erano già un poco troppo avan-

zate nello sviluppo al momento in cui sono state tagliate (25-30 cm. di altezza), il tumore non ha attecchito che pochissimo, talchè non si sono avuti risultati apprezzabili.

Prova VII. - (13-II-1934, 30-IV-1934).

È stata preparata una nuova serie di 5 capsule, 4 delle quali contenevano ognuna 45 semi e 30 cc. della soluzione M/5000 di uno dei 4 metalli usati nella prova precedente, mentre la 5^a capsula, contenente un ugual numero di semi e di cc. di acqua distillata, serviva di controllo. La serie di capsule così preparata è stata tenuta a 27° C e nei giorni successivi ognuna di esse è stata inumidita prima con 10 cc. di soluzione M/50000 del rispettivo metallo, poi con acqua distillata.

Dopo 15 giorni le piantine germinate sono state messe nei bicchieri contenenti ciascuno 180 cc. di soluzione di Pfeffer (in 10 litri) e poi la serie dei bicchieri è stata portata a circa 20-22° C. Dopo altri 5 giorni la soluzione di Pfeffer è stata sostituita, in ogni bicchiere, con 30 cc. della rispettiva soluzione metallica M/5000, volume che è stato poi portato a circa 180 cc. con acqua distillata (in ciascun bicchiere vi erano dunque 180 cc. di soluzione pressochè M/30000); successivamente, fino alla fine della prova, sono state usate alternativamente la soluzione di Pfeffer e le soluzioni metalliche M/5000 sempre nelle quantità indicate.

Dopo 40 giorni, dall'inizio della prova, i ricini sono stati inoculati e dopo altri 37 giorni si sono rilevate le seguenti formazioni tumorali:

Controllo (1) (7) con tumori di 8 mm. in media di diametro

Cu	(6)	»	»	6	»	»	»
Co	(3)	»	»	5	»	»	»
Hg	(1)	»	»	6,5	»	»	»

Le piantine erano in discrete condizioni vegetative.

(1) Vedi nota a pag. 501.

Come si vede i risultati non sono stati molto vistosi, ma sempre *costanti* nel mostrare la maggiore capacità *depressiva* del Co in confronto agli altri metalli.

Le soluzioni metalliche date alle piantine sembrano essere state a *concentrazione troppo forte* per permettere agli altri 3 elementi di esercitare, rispetto ai controlli, una eccitazione sui tumori.

Prova VIII. - (3-III-1934, 30-IV-1934).

Sono state preparate 10 grandi capsule, 8 delle quali contenenti ciascuna 50 semi e 25 cc. di una delle seguenti soluzioni: Cu M/5000, Cu M/50000, Cd M/5000, Cd M/50000, Co M/5000, Co M/50000, Hg M/5000, Hg M/50000, mentre le altre 2 capsule, contenenti lo stesso numero di semi e di cc. di acqua distillata, servivano di controllo. La serie così preparata è stata tenuta a 26° C. Nei giorni successivi sono stati aggiunti ad ogni capsula — in 3 riprese di 9-10 cc. per volta — cc. 28 delle rispettive soluzioni metalliche e dopo 11 giorni le piantine sono state messe nei bicchieri contenenti circa 150 cc. di soluzione di Pfeffer (in 7 litri) ciascuno. Per ogni capsula sono stati preparati da 2 a 4 bicchieri, a seconda del numero di piantine nate in ciascuna di esse.

Dopo 3 giorni è stata rinnovata in tutti i bicchieri la soluzione di Pfeffer e dopo altri 3 giorni essa è stata sostituita, in ciascun bicchiere, con 60 cc. delle rispettive soluzioni metalliche già usate nelle capsule; poi in tutti i bicchieri è stata aggiunta altrettanta acqua distillata (perciò i bicchieri della serie M/5000 contenevano 120 cc. circa di soluzione M/10000 ciascuno, mentre quelli della serie M/50000 contenevano 120 cc. di soluzione M/100000 ciascuno).

In seguito, e per tutta la durata della prova, le 2 soluzioni sono state alternate ogni 5-6 giorni nelle proporzioni indicate; soltanto è da notare che il giorno successivo a quello

dell'inoculazione: in 2 dei 4 bicchieri con Co M/50000, in uno dei 3 bicchieri con Cu M/50000, in uno dei 2 bicchieri con Hg M/50000 e in uno dei 2 bicchieri con Hg/50000 (che sono stati contrassegnati rispettivamente con X, per distinguerli da quelli contenenti soluzioni M/50000) sono stati messi, anziché cc. 60 della rispettiva soluzione M/50000, cc. 30 della soluzione M/5000 (portati poi a circa cc. 120 con acqua distillata) al fine di avere piantine trattate con soluzioni a diluizione intermedia fra le due usate.

Dopo 31 giorni, dall'inizio della prova, le piantine sono state inoculate col sistema già indicato (v. pag. 498) e dopo altri 26 giorni sono stati fatti i rilievi dello sviluppo tumorale.

Questa volta però, dato che le piantine dei diversi bicchieri erano piuttosto numerose, per facilitare l'apprezzamento dell'intensità di attacco, sono state scelte, per ogni trattamento, le 3 piantine con *tumori più sviluppati* e di questi sono state determinate, gruppo per gruppo, le dimensioni medie.

Si sono avuti così i seguenti numeri:

Controllo (*)	(50)	con tumori di	6	mm. in media di diametro		
Hg M/50000	(12)	»	7	»	»	»
Cd »	(10)	»	5,5	»	»	»
Cu »	(15)	»	5,5	»	»	»
Co »	(17)	»	5	»	»	»
Hg M/50000 X	(8)	»	6	»	»	»
Cu »	(12)	»	5,5	»	»	»
Co »	(15)	»	5	»	»	»
Cd »	(5)	»	5	»	»	»
Cu M/5000	(10)	»	5,5	»	»	»

Nelle soluzioni M/5000 del Co, del Cd e del Hg tutte le piantine erano morte prima che il tumore avesse tempo di svilupparsi.

(*) Vedi nota a pag. 501.

Come si vede i risultati più interessanti sono stati quelli della serie M/50000 la quale ha dato una *notevole esaltazione* dello sviluppo tumorale nell'Hg, una *leggera*



Fig. 1.

Ricini allevati in soluzione M/50000 dei rispettivi metalli. (Prova VIII).

depressione nel Cd e nel Cu e una *notevole depressione* nel Co; questa serie è anche stata fotografata per dare un'idea più esatta dell'intensità del fenomeno (v. fig. 1).

Circa lo stato delle piantine si deve notare che il Cd si è mostrato più *tossico* degli altri 3 metalli, sebbene anche il Hg e il Co, in soluzione M/5000, siano apparsi assai nettamente tossici.

Questa prova faceva supporre che le concentrazioni più *opportune* per questo studio fossero comprese fra le M/5000 e le M/50000, perchè sembrava che solo a concentrazioni *intermedie* dovessero corrispondere effetti più notevoli sui tumori, senza che peraltro le piantine subissero danno eccessivo dai singoli trattamenti.

Pertanto nelle 4 prove seguenti sono state usate soluzioni M/15000 e M/30000, e, per vedere se aumentando la diluizione fosse anche aumentata, specie per alcuni metalli, la *capacità eccitatrice* sullo sviluppo dei tumori, sono state inoltre provate anche soluzioni M/60000 e M/90000.

Ma — prima di passare a descrivere queste ultime esperienze — a complemento dell'VIII^a prova devo aggiungere che, al momento in cui le piantine sono state messe nei bicchieri, ne sono state prelevate 6 per capsula e sono state piantate in altrettanti piccoli vasi, per vedere se esse conservassero anche in terra quelle differenze di comportamento che — a seconda del trattamento ricevuto in coltura liquida — avevano dimostrato di fronte agli attacchi del *B. tumefaciens*.

Dopo qualche tempo tutte le piantine sono state inoculate e poi, con ripetuti innaffiamenti, si è continuato a somministrar loro dosi piuttosto *forti* dei rispettivi metalli. Ciò nonostante il tumore si è sviluppato in maniera pressochè *uniforme* in tutte le piantine.

Per controllare meglio questi risultati è stata impiantata un'altra prova, analoga alla precedente, su ricini seminati in vasi comuni del diametro di 20 cm.; sono stati preparati 3 vasi per ciascuno dei 4 metalli in esperimento e ciascuno di essi è

stato innaffiato, dapprima, con soluzione M/1000 dei rispettivi metalli e poi — quando le piantine erano nate ed avevano raggiunto 12-14 cm. di altezza — con soluzione M/20 del rispettivo metallo; quest'ultima soluzione è stata distribuita per 15 giorni, un giorno sì e uno no, in misura di 200 cc. per vaso ogni volta.

Dopo 5 giorni, dacchè si era iniziato l'innaffiamento con soluzioni M/20, le piantine sono state inoculate e poi, per una altra diecina di giorni, si è continuato l'innaffiamento nel modo suddetto.

Le piantine ed i tumori son cresciuti rigogliosi, ma nemmeno questa volta, nonostante le forti quantità di metalli somministrate, si sono osservate differenze apprezzabili tra i tumori dei vari gruppi di piantine diversamente trattate.

Dunque i marcati effetti che si ottengono in coltura liquida, *si perdono completamente nelle colture in terreno*, forse perchè i metalli somministrati passano quivi a composti insolubili e non sono quindi assorbiti dalle piantine in quantità sufficienti a mettere in evidenza il fenomeno.

Dobbiamo ancora notare, per quanto riguarda la vigoria vegetativa, che le piantine trattate coi 4 metalli, e specialmente quelle trattate con Hg, si presentavano ben più lussureggianti dei controlli e di statura quasi doppia; ma soggiungiamo subito che è assai probabile che questo effetto fosse dovuto, più che all'azione eccitatrice dei metalli, alla forte quantità di *azoto nitrico* che si era loro somministrata insieme coi metalli stessi, dato che sono state usate forti dosi dei rispettivi nitrati in notevole concentrazione.

Prova IX. - (28-IV-1934, 1-VI-1934).

Questa prova, come la VI^a, è stata condotta su piantine allevate dapprima in terra e poi *tagliate* al colletto quando già avevano raggiunto i 20-25 cm. di altezza.

All'uopo è stata preparata una serie di 10 bicchieri, 8 dei quali contenevano ognuno cc. 60 di una delle seguenti soluzioni: Co M/15000, Co M/30000, Cu M/15000, Cu M/30000, Cd M/15000, Cd M/30000, Hg M/15000, Hg M/30000, mentre gli altri 2 contenevano cc. 60 di acqua distillata e servivano di controllo.

In ciascun bicchiere sono state poi messe 7-8 delle piantine suddette.

Dopo 5 giorni le piantine sono state lavate e spuntate alla base, mentre nei bicchieri sono state sostituite le soluzioni metalliche con 100 cc. di soluzione di Pfeffer (in 10 litri); in seguito, e fino alla fine della prova, le due soluzioni sono state alternativamente sostituite una all'altra ogni 4-5 giorni.

Dopo 11 giorni, dall'inizio della prova, i ricini sono stati inoculati e dopo altri 23 giorni sono stati osservati i risultati.

Questa volta, anzichè prendere una sola dimensione di ciascun tumore (quella trasversale che finora, impropriamente, ho chiamato *diametro*), ne sono state prese 3 per potere, col loro prodotto, conoscere *approssimativamente il volume* dei tumori stessi. Tra le piantine sono state scartate quelle che avevano il fusto di diametro differente dalla media comune, al fine di non incorrere in errori nell'apprezzamento del volume del tessuto neoplastico.

Trascrivo qui sotto, per ciascun tumore, le singole dimensioni in mm. e, in fondo ad ogni finca, segno in mm³ *il volume medio* dei tumori, per ogni trattamento.

Controllo 1	CoM/15000	CoM/30000	HgM/15000	HgM/30000
10×9×8	8×9×6	9×9×10	9×9×8	11×9×9
8×7×5	8×9×7	9×9×7	9×9×7	9×9×9
9×8×7	8×8×7	7×8×6	8×9×7	9×8×6
8×8×6	8×8×6	7×7×6	9×9×9	9×9×7
9×9×7	—	7×8×6	8×8×8	7×7×7
—	—	8×9×6	—	—
volume medio mm ³	volume medio mm ³	volume medio mm ³	volume medio mm ³	volume medio mm ³
491	442	460	592	592

Controllo 2	CdM/15000	CdM/30000	CuM/15000	CuM/30000
8×8×6	10×8×7	9×9×7	10×9×8	9×9×6
8×8×7	8×8×7	11×9×8	8×8×7	8×8×7
7×8×8	7×6×5	8×9×7	8×8×7	9×8×7
8×8×6	8×8×7	9×9×7	7×8×5	8×8×6
9×9×8	—	—	6×7×7	—
volume medio mm ³	volume medio mm ³	volume medio mm ³	volume medio mm ³	volume medio mm ³
462	414	607	440	456

Dalla tabella si rileva che le 2 soluzioni di Co, le 2 soluzioni di Cu e il Cd M/15000 sono state, rispetto ai controlli, *leggermente deprimenti* lo sviluppo del tumore, mentre le 2 soluzioni di Hg e il Cd M/30000 sono state su di esso *notevolmente eccitanti*.

Prova X. - (1-V-1934, 30-VI-1934).

È stata preparata una serie di 13 grandi capsule, 12 delle quali contenevano ognuna 40 semi di ricino ⁽¹⁾ e cc. 60 delle seguenti soluzioni: Co M/15000, Co M/30000, Co M/90000, Cu M/15000, Cu M/30000, Cu M/90000, Cd M/15000, Cd M/30000, Cd M/90000, Hg M/15000, Hg M/30000, Hg M/90000; l'ultima capsula, contenente lo stesso numero di semi e di cc. di acqua distillata, serviva di controllo.

Nei giorni successivi sono stati aggiunti a ciascuna capsula — in 3 riprese di 9 cc. per volta — cc. 27 della rispettiva soluzione metallica, alla quale venivano poi alternati pochi cc. di acqua distillata, per tenere sempre uniforme il grado di umidità e di concentrazione in tutta la serie di capsule.

Dopo 17 giorni le piantine germinate sono state portate, come al solito, nei bicchieri ciascuno dei quali conteneva cc. 125 circa di soluzione di Pfeffer (in 6 litri); dopo altri 6 giorni è stata sostituita, in ciascun bicchiere, la soluzione di Pfeffer con 100 cc. delle rispettive soluzioni metalliche; in seguito, e fino alla fine della prova, le due soluzioni sono state alternativamente sostituite l'una all'altra ogni 4-5 giorni.

Dopo 32 giorni, dall'inizio della prova, i ricini sono stati inoculati e dopo altri 28 giorni si è rilevato lo sviluppo dei tumori.

Come per la VIII^a prova sono state scelte, per ogni trattamento, le 3 piantine portanti tumori *più sviluppati* e questi ultimi sono stati misurati con lo stesso sistema usato nella IX^a prova; poi le piantine prescelte sono state tutte insieme fotografate (v. fig. 2).

(1) Prima della distribuzione i semi sono stati tenuti per 22' in alcool al 50% circa, allo scopo di impedire il più possibile lo sviluppo di muffe nelle capsule; poi sono stati ripetutamente lavati con acqua sterile.



Fig. 2. - A ciascun gruppo di 3 piantine corrisponde un diverso trattamento che si succede, nelle due file, secondo il seguente ordine da sinistra a destra: Cd M/90000, Cd M/30000, Cd M/15000, Co M/15000, Co M/30000, Co M/90000, Hg M/90000, Hg M/30000, Hg M/15000, Cu M/15000, Cu M/30000, Cu M/90000. (Prova X).

Nella seguente tabella riporto, trattamento per trattamento, le dimensioni di ciascun tumore, nonchè il *volume medio* dei tumori stessi.

Cd (4)M/90000 (*)	Cd (11)M/30000	Cd (19)M/15000	Controllo (9)	Co(11) M/15000	Co(12) M/30000	Co(13) M/90000
11 × 10 × 8	10 × 7 × 6	5 × 6 × 4,5	10 × 9 × 7	6 × 6 × 4	7 × 7 × 6	8 × 7 × 7
10 × 11 × 7	7 × 7 × 8	4 × 6 × 4,5	9 × 9 × 7	5 × 5 × 4	6 × 7 × 6	8 × 8 × 7
11 × 9 × 7,5	8 × 8 × 8	6 × 6 × 6	10 × 9 × 8	4 × 3 × 5,5	6 × 6 × 8	7 × 10 × 8
volume medio mm ³	volume medio mm ³	volume medio mm ³	vol. medio mm ³	volume medio mm ³	volume medio mm ³	volume medio mm ³
797	441	153	639	105	278	467

Hg(16)M/90000	Hg(14)M/30000	Hg(15)M/15000	Cu(16)M/15000	Cu(16)M/30000	Cu(15)M/90000
8 × 7 × 6	8 × 8 × 6	6 × 6 × 9	9 × 8 × 7	8 × 8 × 5,5	7 × 9 × 6
9 × 10 × 7	11 × 12 × 7,5	7 × 8 × 5,5	9 × 7 × 7,5	7 × 7 × 7	9 × 9 × 7
5 × 6 × 8	9 × 9 × 9	6 × 8 × 6,5	7 × 8 × 6	8 × 8 × 6	8 × 7 × 5
volume medio mm ³	volume medio mm ³	volume medio mm ³	volume medio mm ³	volume medio mm ³	volume medio mm ³
402	701	312	437	360	408

Le disposizioni di questa tabella è uguale, riguardo al trattamento subito dalle piantine, a quella della fig. 2, talchè si può facilmente conoscere quali dimensioni parziali e quali volumi medi corrispondessero ai tumori che si vedono. Naturalmente anche questa volta, nel rilevare le dimensioni, è stato tenuto

(*) Vedi nota a pag 501.

conto, per quanto è stato possibile, delle differenze di diametro esistenti fra i vari fusticini. Si noti che alle piantine sono state tolte, prima di fotografarle, le due foglie cotiledonari, perchè non permettevano una visione netta dei tumori; però nella figura sono evidenti i 2 *piccioli* nelle piantine che ancora portavano le 2 foglie suddette in buone condizioni.

Premesso questo, esaminiamo ora dettagliatamente la figura ed i numeri corrispondenti.

Notiamo anzitutto che la *massima depressione* del tumore si è avuta nelle piantine che erano state trattate con Co M/15000. Anche le piantine trattate rispettivamente con Cd M/15000 e con Hg M/15000, e specialmente le prime, hanno permesso uno *scarso* sviluppo dei tumori, ma esse si trovavano in condizioni vegetative *ben peggiori* di quelle trattate con Co M/15000, in quanto avevano perduto quasi del tutto le foglie cotiledonari, non avevano emesso che piccolissime e scarse foglie del germoglio ed erano ormai sprovviste di radici; si osservi a quali *monconcini* erano ormai ridotte le piantine trattate con Cd M/15000; in queste condizioni si comprende come non potessero essere *sintetizzate* le sostanze nutritizie necessarie a produrre l'abbondante sviluppo del tumore. Per contro il Co M/15000 aveva bensì depresso notevolmente la vigoria vegetativa delle piantine — specie col non permettere generalmente lo sviluppo del germoglio centrale, che restava come *bruciato* dal metallo — ma in cambio le foglie cotiledonari erano ancora abbastanza rigogliose ed anche le radici si conservavano meno deteriorate di quanto si è visto a proposito del Hg e specialmente del Cd. Il Cu M/15000 invece ha permesso uno sviluppo notevole del tumore, pur rimanendo sempre nella *fase deprimente*, però le piantine, sebbene le radici fossero piuttosto deteriorate, si presen-

tavano con foglie vigorose ed avevano perciò potuto alimentare notevolmente lo sviluppo del tumore.

Anche nelle soluzioni M/30000 il Co ha dimostrato la *depressione massima* con notevole distacco dagli altri metalli e specialmente dal Hg che è stato, a questa diluizione, *notevolmente eccitanti*.

Nelle soluzioni M/90000 un'eccitazione notevole è stata data dal Cd, mentre gli altri 3 metalli, hanno avuto valori simili fra loro e *notevolmente deprimenti*. Questa volta il Co è stato un po' meno deprimente del Hg e del Cu, pur non avendo permesso alle piantine condizioni vegetative così *rigogliose* come gli altri metalli.

A questo proposito dobbiamo notare — e risulta anche dalla fotografia — come *non vi sia stata stretta correlazione tra sviluppo del tumore e rigoglio vegetativo*. Infatti — oltre a quanto abbiamo or ora notato per il Co M/90000 — si osservi ancora: 1) il minore sviluppo tumorale del Cu M/90000 e del Hg M/90000 in confronto al Cd M/90000, nonostante che la vigoria vegetativa sia pressochè uguale nei 3 casi; 2) il minore sviluppo tumorale delle piantine in Co M/15000 in confronto a quelle in Cd e in Hg alla stessa diluizione, nonostante lo stato notevolmente *meno depresso* delle piantine trattate con Co; 3) il maggiore sviluppo tumorale delle piantine in Cd M/30000 in confronto di quello delle piantine in Hg M/90000 ed in Cu M/90000 nonostante il molto maggiore rigoglio vegetativo delle piantine trattate con queste due ultime soluzioni. Del resto fatti del tutto simili sono stati riscontrati frequentemente nel corso di queste prove.

Tornando un momento agli effetti esercitati dai vari metalli sulle piantine è bene ricordare che il Co, quando è in soluzioni più concentrate della M/30000, ha una netta *azione caustica* sulle foglioline del germoglio, mentre nelle

stesse concentrazioni sembra essere poco dannoso allo sviluppo delle 2 foglie cotiledonari; inoltre, nelle soluzioni di Co, le piantine crescono all'altezza normale, ma hanno fusticini generalmente *più sottili* del normale. Gli altri 3 metalli hanno invece alcuna volta, nelle concentrazioni suddette, un'azione notevolmente *moderatrice* dell'allungamento delle piantine sì che esse risultano *più corte e grosse* del normale; e ciò si nota principalmente per il Cu, mentre il Hg e il Cd hanno in genere un'azione che, come si è visto, è ben più *fortemente deleteria* tanto sulle foglie che sulle radici. In soluzione M/90000 il Cu, il Cd e il Hg hanno, sulle piantine, una leggera azione *stimolante* il maggior rigoglio vegetativo.

Ma un'altra cosa, pure di un certo interesse, si rileva dall'esame della fig. 2, ed è il *diverso andamento* che, in rapporto alla loro diluizione, hanno mostrato i 4 metalli sullo sviluppo del tumore. Si vede infatti che mentre il Co e il Cd hanno mostrato, salve le proporzioni, un *graduale aumento* del tessuto neoplastico coll'aumentare della diluizione, il Hg invece ha mostrato *un massimo* di sviluppo tumorale in corrispondenza della sua soluzione M/30000 ed, infine, il Cu ha dimostrato un andamento pressochè *uniforme*.

La *fisionomia* di questi diversi andamenti risulta chiaramente dal piccolo grafico della fig. 3.

Questa constatazione, che peraltro attende la conferma di una ulteriore sperimentazione, fa d'altra parte supporre che sarebbe opportuno spingere l'indagine agli effetti prodotti da soluzioni M via via più diluite di quelle fin qui usate; perchè mentre sembrerebbe, da quanto si è visto fin qui, che il Hg abbia la sua *fase eccitativa* con soluzioni comprese tra le M/30000 e le M/50000 (confrontare la fig. 1 della prova VIII e le corrispondenti dimen-

sioni dei tumori) e che il Cd l'abbia con soluzioni pressochè M/100000, il Co e il Cu dovrebbero invece averla per soluzioni ben *più diluite* di quelle fin qui provate.

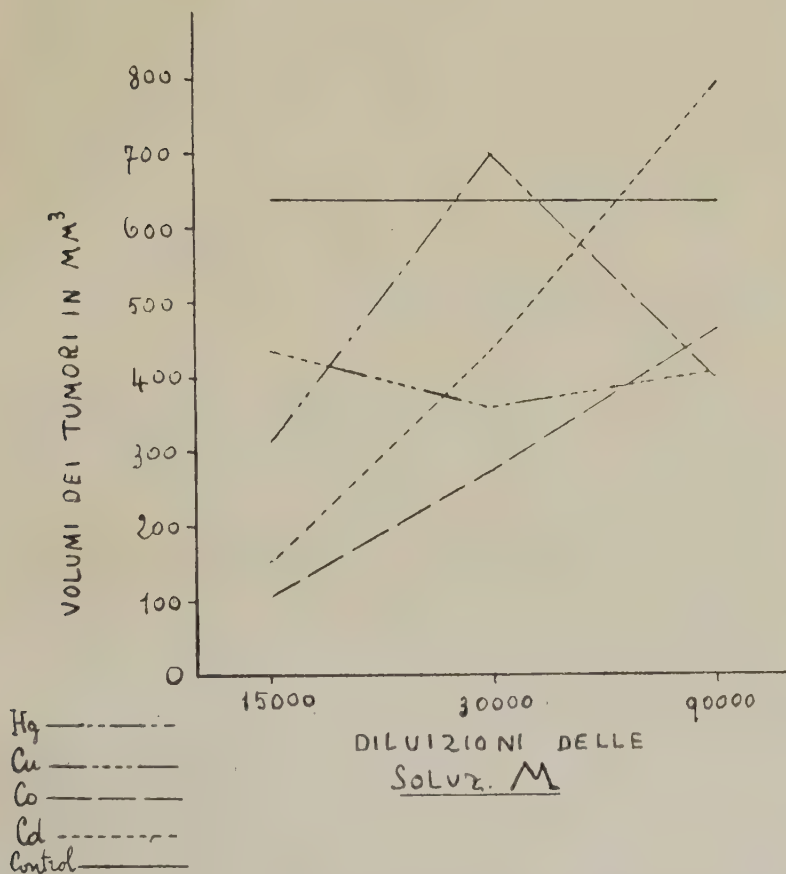


Grafico mostrante il diverso andamento dell'influenza esercitata sullo sviluppo del tumore dal Co, Cd, Hg e Cu a diverse diluizioni delle rispettive soluzioni M. Il controllo è rappresentato da una retta perpendicolare alle ordinate. (Prova X).

Certo per ora è prematuro fare supposizioni del genere e, d'altra parte, sono in corso esperimenti destinati a lumeggiare meglio questi punti. Comunque però si può

dire fin d'ora che per ognuno dei metalli provati deve esistere un *optimum* di concentrazione che renda massimo l'effetto di eccitamento prodotto da ciascuno di essi sui tumori, in confronto allo sviluppo raggiunto dai rispettivi controlli; e si può anche dire che tale *optimum* non è in stretta correlazione nè con la più o meno marcata tossicità che il metallo esercita sulle piantine di ricino, nè col peso atomico dei vari metalli usati; infatti, ad esempio, il Cu, che è assai meno tossico alle piantine del Cd e del Hg e che è di essi ben più leggero, ha probabilmente la sua fase di eccitazione sui tumori a concentrazioni più diluite che i due suddetti metalli.

Prova XI. - (15-V-1934, 25-VI-1934).

Questa prova è stata impiantata con piantine *tagliate* al colletto in modo del tutto simile alla IX^a, con queste sole variazioni: 1) che la soluzione di Pfeffer è stata usata in concentrazione pressochè doppia di quella della IX^a prova e che perciò se ne metteva per ogni bicchiere, una dose pressochè metà, talchè la quantità di sostanze nutritive date alle piantine è stata a un di presso la stessa che nella prova suddetta; 2) che le soluzioni sono state questa volta cambiate ogni 3-4 giorni, anzichè ogni 4-5 come nella prova precedente.

Le inoculazioni sono state fatte dopo 11 giorni dacchè la prova era stata impiantata, e dopo altri 30 giorni sono stati misurati i 3 tumori che per ogni trattamento si mostravano più sviluppati, tenendo anche questa volta il dovuto conto del diametro dei fusticini. Ecco i risultati.

Controllo (13) (*)	Co(7)M/15000	Co(6)M/30000	Hg(8)M/15000	Hg(8)M/30000
$7 \times 8 \times 7$	$6 \times 7 \times 6$	$7 \times 5 \times 5$	$8 \times 9 \times 7$	$9 \times 8 \times 8$
$9 \times 8 \times 6,5$	$7 \times 8 \times 7$	$7 \times 6 \times 6$	$8 \times 8 \times 6,5$	$8 \times 7 \times 7$
$8 \times 6 \times 8$	$7 \times 6 \times 6$	$6 \times 8 \times 5$	$8 \times 7 \times 7$	$6 \times 9 \times 8$
volume medio mm ³	volume medio mm ³	volume medio mm ³	volume medio mm ³	volume medio mm ³
415	299	222	437	470

Cu(7)M/15000	Cu(6)M/30000	Cd(2)M/15000	Cd(4)M/30000
$3 \times 8 \times 7$	$8 \times 10 \times 8$	$7 \times 8 \times 5,5$	$8 \times 8 \times 7$
$8 \times 9 \times 6$	$9 \times 8 \times 6,5$	$8 \times 6 \times 6,5$	$8 \times 9 \times 7,5$
$8 \times 8 \times 6$	$8 \times 8 \times 7$	—	$7 \times 8 \times 6$
volume medio mm ³	volume medio mm ³	volume medio mm ³	volume medio mm ³
421	519	310	441

Dalla tabella si rileva che il Co è stato *notevolmente deprimente* sullo sviluppo del tumore, mentre il Hg e specialmente il Cu hanno esercitato un certo *eccitamento* su detto sviluppo; il Cd è stato *piuttosto deprimente* in soluzione M/1500 mentre ha esercitato un eccitamento assai leggero in soluzione M/30000.

Prova XII. - (18-V-1934, 30-VI-1934).

Anche questa prova, come la precedente, è stata impiantata in modo simile alla IX^a, con le seguenti varianti: 1) sono state

(*) Vedi nota a pag. 501.

usate, oltre che le soluzioni M/15000 e M/30000, anche le soluzioni M/6000 dei 4 soliti metalli; 2) si deve ripetere la stessa osservazione, già fatta per la prova precedente, a proposito della concentrazione della soluzione di Pfeffer; 3) invece dei bicchieri sono state usate piccole beute in ciascuna delle quali sono state messe 4 piantine (tagliate al colletto).

Dopo 13 giorni, dall'inizio della prova, sono state fatte le inoculazioni e dopo altri 30 giorni sono stati misurati i tumori con i seguenti risultati.

Controllo	CoM/15000	CoM/30000	CoM/60000	HgM/15000	HgM/30000	HgM/60000
8×6×5	7×6×6	7×5×7	8×7×6	8×7×7	7×6×7	8×7×7
7×6×6	7×6×6	7×7×4	7×5×7	8×7×7	7×7×7	8×6×5,5
7×6×6,5	6×5×5	—	6×6×5	9×7×6,5	9×8×7	—
—	6×5×4	—	7×5×7	—	8×6×5	—
volum. medio mm ³	volum. medio mm ³	volum. medio mm ³	volum. medio mm ³	volum. medio mm ³	volum. medio mm ³	volum. medio mm ³
235	193	220	262	398	345	348

CuM/15000	CuM/30000	CuM/60000	CdM/15000	CdM/30000	CdM/60000
8×8×7	7×7×8	8×8×7	8×6×7	7×6×7	8×8×6
8×7×7	8×7×7	7×7×7	7×6×6	7×6×5	7×6×5
8×7×6	6×6×6	7×7×6	—	—	7×6×5
8×4×6	7×7×5	9×6×7,5	—	—	6×5×4,5
volum. medio mm ³	volum. medio mm ³	volum. medio mm ³	volum. medio mm ³	volum. medio mm ³	volum. medio mm ³
342	311	369	294	252	235

Dalla tabella si rileva che soltanto il Co M/15000 e il Co M/30000 sono stati *leggermente deprimenti* sullo sviluppo del tessuto neoplastico, mentre tutti gli altri metalli, compreso il Co M/60000, sono stati più o meno *eccitanti* sullo sviluppo stesso; fra questi il Hg e il Cu hanno dato *netti eccitamenti*.

*
* *

Dopo aver ripetutamente sperimentato sui 4 metalli che mi ero proposto di studiare più a fondo (Co, Cu, Hg, Cd), ho voluto provare ancora una volta il comportamento del Pb, del Ba, dello Sr e dello Zn perchè, nelle prime 4 prove (ved. tabella II, allegata), essi si erano mostrati *costantemente eccitanti* sullo sviluppo dei tumori.

Insieme con questi metalli e col relativo controllo, è stato riprovato nuovamente anche il Co, per avere il confronto dell' *effetto deprimente*.

Prova XIII. - (19-VII-1934, 24-VIII-1934).

È stata preparata, nel modo consueto, una serie di 12 grandi capsule; 10 di queste contenevano ciascuna 50 semi di ricino e 30 cc. di una delle seguenti soluzioni: Co M/15000, Co M/30000, Sr M/15000, Sr M/30000, Ba M/15000, Ba M/30000, Pb M/15000, Pb M/30000, Zn M/15000, Zn M/30000, mentre le altre 2 servivano di controllo e contenevano rispettivamente lo stesso numero di semi e di cc. di acqua distillata. Nei 5 giorni successivi le capsule sono state inumidite una volta con pochi cc. di acqua distillata e un'altra con 6 cc. delle rispettive soluzioni metalliche. Dopo 7 giorni sono stati tolti e lavati tutti i semi germinati, poi, dopo aver lavato ed asciugato le capsule, è stata rimessa, in ognuna di esse, nuova carta e 35 cc. della rispettiva soluzione metallica; nei 4 giorni successivi esse sono state nuovamente inumidite una volta con pochi cc. di acqua distillata e un'altra con 10 cc. delle rispettive soluzioni.

Dopo 12 giorni, dall'inizio della prova, le piantine sono state messe nei bicchieri (da 250 cc.) contenenti ognuno 200 cc. di soluzione di Pfeffer (in 7 litri); dopo altri 4 giorni la soluzione di Pfeffer è stata sostituita in ogni bicchiere con 170 cc. della rispettiva soluzione metallica; in seguito, e fino alla fine della prova, le due soluzioni sono state alternativamente sostituite una all'altra ogni 4-5 giorni.

Dopo 19 giorni, dall'inizio della prova, i ricini sono stati inoculati, e dopo altri 18 giorni sono stati rilevati i seguenti risultati, usando lo stesso sistema già descritto per la X^a prova; anche questa volta si è tenuto il dovuto conto del diverso diametro dei fusticini.

PbM/15000	PbM/30000	ZnM/15000	ZnM/30000	BaM/15000	BaM/30000
6 × 7 × 8	8 × 8 × 5	7 × 8 × 6	10 × 7 × 6	6 × 9 × 5	6 × 9 × 6
7 × 7 × 9	5 × 8 × 6	5 × 9 × 6,5	6 × 5 × 10	6 × 6 × 9	6 × 10 × 6
6 × 8 × 5	5 × 5 × 5	7 × 8 × 5,5	6 × 9 × 3,5	9 × 6 × 5	6 × 9 × 5
volume medio mm ³	volume medio mm ³	volume medio mm ³	volume medio mm ³	volume medio mm ³	volume medio mm ³
339	228	316	303	303	318

CoM/15000	CoM/30000	Controllo	SrM/15000	SrM/30000
6 × 3 × 4	5 × 6 × 5,5	7 × 10 × 4	6 × 10 × 4	10 × 7 × 4
3 × 6 × 3	6 × 8 × 5	5 × 10 × 5	8 × 10 × 7	9 × 7 × 4
4 × 5 × 3,5	5 × 9 × 4	6 × 10 × 5	5 × 9 × 4,5	5 × 6 × 9
volume medio mm ³	volume medio mm ³	volume medio mm ³	volume medio mm ³	volume medio mm ³
65	195	277	334	267

In ogni bicchiere erano contenute dalle 10 alle 16 piantine

Per quanto dunque riguarda l'eccitamento e la depressione esercitata sullo sviluppo del tumore i metalli suddetti si sono comportati anche in questa prova come nelle precedenti.

Il Ba, il Pb, lo Zn e lo Sr hanno esercitato ancora un *leggero eccitamento* sullo sviluppo tumorale, e tale eccitamento, ad eccezione che nel Ba, è stato maggiore nelle piantine trattate con soluz. M/15000 anzichè in quelle trattate con le rispettive soluz. M/30000; probabilmente dunque, per questi metalli, la *quantità ottimale* che mette in evidenza una *netta esaltazione* del tessuto neoplastico, si trova a concentrazioni leggermente più forti di quella corrispondente alla loro soluz. M/15000; forse la concentrazione più adatta è quella corrispondente a soluzioni M/10000.

E' da mettere in speciale rilievo il comportamento dello Sr che assomiglia molto, come già abbiamo avuto occasione di notare, a quello del Cd e del Hg, nel senso che anche questo metallo si presenta *eccitante sullo sviluppo neoplastico mentre è deprimente del B. tumefaciens in coltura*; anzi data la *maggiore continuità* dimostrata da questo metallo nell'esaltare la formazione neoplastica, esso ha presentato *più netto il contrasto* di effetti.

Lo Zn ha avuto un comportamento *simile* a quello dello Sr, per quanto *notevolmente meno marcato*.

Per il Co abbiamo in questa prova una *conferma* della sua energica capacità deprimente sulla formazione tumorale.

Quanto allo stato delle piantine è da osservare che esse erano notevolmente depresse nel Co M/15000 e un poco anche nel Co M/30000, mentre negli altri 4 metalli esse erano generalmente benestanti come nei controlli;

questa circostanza può quindi avere influito sulle forti differenze riscontrate nei volumi raggiunti dai neoplasmi delle piantine trattate con ognuno di questi 4 metalli, in confronto a quelli raggiunti dai neoplasmi delle piantine trattate con Co; però dobbiamo ricordare — come già si è messo in evidenza a proposito del Cd e del Hg (v. pag. 535) — che nel corso di questa sperimentazione, almeno entro certi limiti, lo sviluppo del tumore non è stato proporzionale al rigoglio vegetativo delle piantine.

*
* *

Tutta la sperimentazione qui riportata rappresenta la *base* di ricerche forse fruttuose di utili insegnamenti *generali*. Tuttavia, allo stato attuale della sperimentazione, pochi risultati certi ci sono offerti e tra essi sembra ormai indubitabile che il *Co* abbia la *capacità di ostacolare* — attraverso i tessuti della pianta, quando da essa sia stato assunto — *lo sviluppo di neoplasmi sperimentali da B. tumefaciens*, pur non essendo *affatto tossico* al batterio stesso.

Questo risultato, soprattutto, mi preme mettere in evidenza con questo lavoro, essendo intuitivo come non si abbiano per ora argomenti suadenti e certi per renderci conto del meccanismo di azione che, attraverso i tessuti dell'ospite, questo metallo espliciti per impedire o rallentare la rapida moltiplicazione cellulare che il batterio è capace di imporre alle zone di tessuto da esso stesso ricondotte allo stato neoplastico.

In seno alla pianta si sono determinati composti organici del metallo, deprimenti la moltiplicazione del batterio? o antitetici e neutralizzanti i prodotti di metamorfosi regressiva di esso (dato che siano tali prodotti ad ecci-

tare la proliferazione patologica dei tessuti dell'ospite)?⁽¹⁾. ovvero l'azione del metallo o dei suoi composti agisce *in prevalenza* sulle cellule dell'ospite sviluppandone o forse accentuandone le capacità naturali di resistenza all'azione del batterio? o comunque tale azione controbilancia lo stimolo, di qualunque natura esso sia, causato dal batterio stesso sulle cellule della pianta? o infine il metallo o i suoi composti sono capaci di ricondurre al normale il ritmo e l'equilibrio della moltiplicazione cellulare che erano stati gravemente disturbati dalla presenza del batterio?

Tutti questi interrogativi, e forse altri ancora che si potrebbero agevolmente porre, sono per ora destinati a rimanere tali, in attesa che una sperimentazione più raffinata e più abbondante ci indirizzi ed orienti in così intimo e tanto importante problema.

Per ora mi tengo pago di avere posto in evidenza il fatto in se stesso; su questo argomento ho già in corso esperimenti in altro campo.

Tuttavia credo opportuno accennare a un inizio di sperimentazione diretta soprattutto a chiarire il comportamento del batterio coltivato in *succo filtrato* di piante trattate con *Co* e con *Hg*, in confronto al suo modo di comportarsi in succo di piante non trattate.

⁽¹⁾ Le sostanze tossiche o i prodotti del metabolismo emessi dal batterio — sostanze che potrebbero esercitare uno stimolo sulla cariocinesi e quindi sulla formazione del tessuto neoplastico — potrebbero venire *inattivate* del *Co* o dai suoi composti, con processo analogo a quello messo recentemente in rilievo da R. SAVELLI e da N. SOSTER, a proposito del *potere antidotico* espletato da alcuni metalli (*Zn*, *Ba*, *Sr*, *Ca*, *Al*, ecc.) sulla tossicità di determinati alcaloidi (stricnina, chinina, caffeina, ecc.) da essi somministrati in dosi varie a semi germignanti di *Sinapis alba*. - (*Bull. Orto Bot. R. Univ. di Napoli*, Tomo XI, 1932).

Questa ricerca è stata intrapresa pensando che, se nei tessuti delle piante trattate con Co o con Hg si fossero formati composti dannosi o favorevoli al parassita, essi avrebbero probabilmente potuto essere altresì presenti nel succo estratto da tali piante e filtrato per candela; perciò il batterio coltivato in questo succo, avrebbe dovuto svilupparsi notevolmente meno o più che nel succo di pianta non trattata affatto.

È dunque stato impiantato il seguente esperimento:

Sono state preparate, nel solito modo, 3 grandi capsule la prima delle quali conteneva cc. 30 di acqua distillata e serviva di controllo, la seconda cc. 30 di una soluzione di Co M/10000, la terza cc. 30 di una soluzione di Hg M/10000 (sempre sotto forma di nitrati); in ciascuna capsula sono poi stati messi 50 semi preventivamente tenuti 7-8' in alcool al 50 % circa (per disinfettarli) e poi ripetutamente sciacquati ed asciugati.

Dopo 7 giorni sono stati scelti e lavati bene i semi germinati, è stata cambiata la carta a ciascuna capsula e poi vi sono stati rimessi 30 cc. della rispettiva soluzione e i corrispondenti semi germinati. Dopo 10 giorni, dalla semina, sono stati aggiunti in ogni capsula 10 cc. delle soluzioni M/15000 dei rispettivi metalli; dopo altri 2 giorni è stata ricambiata la carta in ciascuna di esse e vi sono stati rimessi cc. 40 delle rispettive soluzioni M/10000 ⁽¹⁾.

Dopo 15 giorni, dalla semina, le piantine sono state messe nei bicchieri ognuno dei quali conteneva cc. 200 di soluzione di Pfeffer (in 6 litri); dopo altri 4 giorni detta soluzione è stata sostituita, in ciascun bicchiere, con cc. 150 (portati poi a 200 con

⁽¹⁾ Sono state scelte le soluzioni M/10000-15000, perchè a queste concentrazioni il Co ha *sempre* inibito quasi completamente lo sviluppo del tumore, senza peraltro danneggiare troppo le piantine.

acqua distillata) delle rispettive soluzioni metalliche M/15000; tale sostituzione è stata ripetuta altre 2 volte (una con soluzione M/15000, una con soluzione di Pfeffer) sempre alla distanza di 4-5 giorni una dall'altra.

Dopo 33 giorni, dall'inizio della prova — quando cioè i tessuti delle piantine avevano avuto il tempo di assimilare notevoli quantità dei rispettivi cationi e, più che altro, di elaborare gli eventuali composti di cui si è parlato più sopra — le piantine sono state tolte dai bicchieri e ripetutamente lavate, specie all'apparato radicale, dal quale sono state asportate altresì tutte le parti anche leggermente alterate; poi tenendole divise trattamento per trattamento, sono state lasciate per un'ora immerse in molta acqua perchè si liberassero dalle tracce di metallo solubile che loro aderissero esternamente; infine dopo essere state di nuovo ripetutamente lavate, sono state ben pestate, partita per partita, in mortaio e ne è stato raccolto tutto il succo; quest'ultimo è stato allungato con circa altrettanta acqua, colla quale era stato esaurito il residuo solido della poltiglia rimasta dopo la spremitura del succo stesso.

Tali succhi dopo essere stati ripetutamente centrifugati, per liberarli dai frammenti di tessuto in essi sospesi, sono stati ad uno ad uno filtrati attraverso altrettante candele Chamberland N. 3, previamente sterilizzate.

Di ciascuno dei tre succhi sono state riempite varie piccole provette e poi in due di queste, per ciascun succo, sono state disseminate due ansate di una sospensione omogenea molto densa di *B. tumefaciens*. Dopo 14 ore è stata presa, per ciascun succo, una delle due provette dove era stato seminato il batterio, è stata bene agitata e poi, col succo di ognuna di esse, sono stati fatti due strisci su due tubetti di agar di brodo glucosato all'1,5 ‰. Per ognuno dei due trattamenti metallici fatti subire alle piantine e per il rispettivo controllo si avevano così *due provette* (contenenti succo di ricino seminato con *B. tumefaciens*) e *due tubetti* di agar di brodo (su ciascuno dei quali

era stato fatto uno striscio prelevando il batterio dalla sospensione di una delle rispettive provette).

Dopo altri due giorni nelle due provette con succo di ricini trattati con Co era già evidente la formazione della *membrana batterica* superficiale e il liquido si presentava torbido; invece le due provette del controllo e quelle con succo di ricino trattato con Hg non presentavano ancora la membrana ed il succo era in esse più limpido. Quanto ai sei tubetti dove era stato fatto lo striscio: i due provenienti dal succo di piantine trattate con Co presentavano già un abbondante sviluppo del batterio, mentre i due controlli e i due tubetti provenienti dal succo di piantine trattate con Hg, non presentavano che un inizio di sviluppo appena percettibile (una colonia di circa 2 mm. in uno dei due tubetti di ciascun gruppo).

Dopo altri due giorni lo sviluppo nelle provette con succo controllo e con succo Hg aveva pressochè raggiunto quello delle provette con succo Co, in quanto si era formata anche in esse la membrana batterica. Inoltre lo sviluppo era comparso netto anche nei due tubetti del controllo e in quelli del Hg, ma meno in questi ultimi che nei controlli, talchè esso si presentava *massimo* nei tubetti del Co, *intermedio* in quelli di controllo e *minimo*, per quanto molto notevole, in quelli del Hg; dopo qualche altro giorno lo sviluppo si è equiparato in tutti i 6 tubetti.

La prova è stata ripetuta pressochè nello stesso modo su altre 6 provette contenenti gli stessi succhi, ma colle seguenti differenze: 1) la patina batterica, che doveva essere disseminata nelle provette stesse, è stata prelevata dallo stesso punto della membrana superficiale di una brodocultura del batterio, anzichè dalla sospensione omogenea del batterio stesso come nella prova precedente ⁽¹⁾; 2) i pezzetti di patina sono stati deposti alla su-

(¹) Naturalmente l'ansa veniva ben *lavata* e sterilizzata ogni volta che si prelevava la patina dalla brodocultura.

perficie del succo, senza poi agitare per non sollevare il deposito che si era formato in fondo ad ogni provetta dopo la filtrazione; però, siccome nelle provette con succo Hg la patina era in gran parte andata a fondo, ne è stata rimessa altrettanta in ciascuna provetta.

Dopo 2 giorni, quando non si era ancora sviluppata la membrana alla superficie del succo, sono stati fatti gli strisci su 6 tubetti di agar di brodo, nello stesso modo indicato per la prova precedente; soltanto le provette, dalle quali è stato prelevato il succo per gli strisci, non sono state agitate prima del prelevamento. Dopo altri 3 giorni in tutte le provette si era sviluppata ugualmente la membrana superficiale, mentre per quanto riguarda lo sviluppo del batterio nei rispettivi tubetti, era avvenuto l'opposto di quello che si era constatato nella prima prova: infatti il batterio si era sviluppato *bene* nei due tubetti dell'Hg, *molto meno* in quelli del controllo e *quasi affatto* in quelli in Co.

Però dopo vari giorni lo sviluppo è andato man mano equiparandosi in tutti i tubetti, pur rimanendo sempre leggermente più indietro tanto nei due del controllo che, e specialmente, in quelli del Co (in confronto a quelli del Hg).

In un primo momento non ci si rende conto di questo contrasto fra i risultati delle due prove, ma bisogna ricordare che nel succo delle varie provette non vi poteva essere una sospensione omogenea di batteri, perchè nelle provette del Hg — essendovi stata portata, come s'è detto, una dose quasi doppia di patina microbica — doveva logicamente esserci un numero di batteri pressochè doppio che nelle altre; è pertanto probabile che a ciò si debba il contrasto tra i risultati ottenuti nelle due prove dagli strisci su agar di brodo. Del resto ciò che più conta è che, *in tutt' e due le prove, lo sviluppo della membrana superficiale è stato pressochè uguale nelle 6 provette.*

Lo studio sui succhi può solo orientarci in ricerche di tanta delicatezza che riguardano *il vivo*, perchè è difficile spiegarsi attraverso quali trasformazioni, svolgentisi nel meccanismo vivente, il Co agisca sulle cellule dell'ospite o invece sui prodotti del parassita oppure sul parassita stesso o infine sulle relazioni reciproche, qualunque esse siano, dei due simbiotici antagonisti.

In ogni modo da quanto si è esposto sembra risultare che i succhi delle piante trattate con metalli (Co e Hg) aventi effetti *opposti* sul meccanismo della resistenza alle infezioni da *B. tumefaciens*, si *comportino*, di fronte al batterio stesso, *nè più nè meno dei succhi di piante non trattate*.

Da ciò si potrebbe supporre che, in seno ai tessuti trattati, non si formino composti nè dannosi nè favorevoli al batterio in se stesso; perciò si dovrebbe orientare la ricerca preferibilmente all'identificazione della natura dell'azione esercitata dai metalli o dai loro composti sulla resistenza dell'ospite (¹).

D'altra parte i fenomeni contrastanti — fra l'azione esercitata da alcuni metalli (Co, Hg, Cu, Cd, Sr) da una parte sul batterio in coltura, dall'altra sulla forma-

(¹) Si sa, da ricerche condotte specialmente da studiosi giapponesi (A. WATANABE, *Ueber die vitale Oxydation der Pflanzenzellen mit den Kobaltamminkomplexsalzen* in *Japan. Journ. of Botany*, IV, 1, 37, 1928) che il Co in combinazione amminica ha, anche in soluzioni molto diluite, una netta attitudine ad indurre o ad accelerare l'*ossidazione vitale delle cellule vegetali* e specialmente dei composti del tipo del tannino (K. SHIBATA, in *Bot. Magaz. Tokio*, 34, 1920, 36, Japanisch; *Toyo Gakugei Zasshi*, 38, 1921, 17, Japanisch); orbene non è affatto escluso che, appunto con meccanismo analogo, il suddetto metallo dia luogo a composti di ossidazione che agiscano sulla pianta in qualcuno dei modi testè prospettati.

zione del tumore — che, nel corso di questa sperimentazione, sono stati messi in evidenza, si compongono in maniera più convincente qualora si ammetta che i metalli suddetti agiscano sull'ospite piuttosto che sul parassita.

Comunque questa prima, semplicissima, ricerca non vuole che essere un primo indirizzo ad ulteriori studi su questo argomento.

Un breve esame alle 3 tabelle finali, che riassumono i principali dati e risultati di tutta la sperimentazione, ci servirà di conclusione a questo studio.

A) *Metalli che, nelle concentrazioni usate, non si sono mostrati notevolmente dannosi alle piantine di ricino.*

1) Il *Th*, l'*U* e l'*Al* si sono mostrati praticamente *indifferenti* sia sullo sviluppo del tumore che su quello del *B. tumefaciens* in cultura.

2) Il *Ce*, il *K* e il *Pd* si sono mostrati, in genere, *piuttosto eccitanti* sulla formazione del tumore; quanto all'azione esercitata sul batterio in cultura: il *Ce* e il *Pb* sono stati pressochè *innocui*, mentre il *K* ha manifestato un effetto *leggermente deprimente*.

3) Il *Pb*, il *Ba* e lo *Zr* si sono mostrati *nettamente eccitanti* sulla formazione del tumore ed *innocui* o *leggermente eccitanti* (*Ba*, *Pb*) sul batterio in cultura.

4) Lo *Zn* e lo *Sr* si sono mostrati *nettamente eccitanti* sulla formazione del tumore e *nettamente deprimenti* sullo sviluppo del batterio in cultura.

5) L'*Ag* e il *Fe*, ma specialmente il primo, hanno dato effetti *discordanti*, e perciò *dubbi*, sullo sviluppo del tumore; per quanto riguarda lo sviluppo del batterio in cultura: il primo si è mostrato *fortemente tossico*, mentre il secondo è stato pressochè *innocuo*.

6) Del *Li* e del *Ni* non si hanno dati sufficienti per poter dare un qualsiasi giudizio della loro azione sullo sviluppo del tumore ; si può dire soltanto che mentre il primo si è mostrato *innocuo* tanto sulle piantine che sul batterio, il secondo è stato invece notevolmente *tossico* sul ricino (sul batterio non è stato provato).

B) *Metalli che si sono mostrati più o meno tossici sulle piantine di ricino.*

7) Il *Cd*, fra tutti i metalli usati, si è mostrato *il più tossico* sulle piantine di ricino, tanto che spesso non ha ad esse permesso di alimentare il tumore ; quest' ultimo è quindi risultato varie volte depresso in confronto ai controlli che, invece, si conservavano in buone condizioni vegetative. Tuttavia varie volte, nonostante la netta alterazione delle piantine, esso è stato *notevolmente* ed anche *marcatamente eccitante* sullo sviluppo del tessuto neoplastico. Questo fatto stabilisce dunque, entro certi limiti, la mancanza di una stretta correlazione tra sviluppo tumorale e rigoglio vegetativo delle piantine.

A forti diluizioni il *Cd* (soluzione M/90000) è apparso leggermente *stimolante* la vigoria vegetativa dei ricini e *notevolmente eccitante* lo sviluppo del tumore.

Sul batterio in cultura è risultato *marcatamente deprimente*.

8) Il *Cu* si è mostrato assai *meno tossico* del *Cd*, del *Hg* e anche del *Co* sulle piantine e spesso ha *esaltato* la formazione del tumore in confronto ai controlli ; ciò si è verificato specialmente nelle prove fatte su piantine allevate in terra e poi *tagliate* e messe in soluzione ; però in molti casi esso è stato *notevolmente deprimente* sullo sviluppo tumorale, talchè, in complesso, può dirsi che la sua azione sul tumore sia stata *dubbia*.

Sul batterio in cultura il *Cu* è apparso *fortemente tossico*.

9) Il *Hg* si è mostrato, in genere, *fortemente tossico* sulle piantine e, in soluzioni più concentrate delle *M/15000-20000*, è stato anche *nettamente deprimente* sullo sviluppo del tumore, probabilmente per le stesse ragioni accennate or ora a proposito del *Cd*; però in soluzioni *M/30000-50000* esso si è mostrato *notevolmente eccitante* sulla formazione del tessuto neoplastico. Ed eccitante sullo sviluppo di tale tessuto esso si è, in genere, mostrato anche nelle prove fatte con piantine allevate in terra e poi *tagliate* e messe in soluzione, forse perchè queste piante, essendo in uno stadio più avanzato di sviluppo, hanno potuto resistere meglio alla tossicità del metallo.

Sul batterio si è mostrato *più tossico di tutti* gli altri metalli sperimentati, tanto che in soluzione *M/50000* ha completamente devitalizzato il batterio in poco più di 8 ore.

10) Il *Co* si è mostrato *notevolmente tossico* sulle piantine specialmente *ustionandone*, in modo più o meno grave, le *giovani foglioline del germoglio*; però, nel complesso, esso è risultato generalmente assai meno nocivo alle piantine stesse che non lo siano stati il *Cd* e il *Hg*.

Sul tumore, ripeto ancora, esso è stato *costantemente e marcatamente deprimente*, fino ad inibirne quasi del tutto lo sviluppo in soluzione *M/15000*. Ma per manifestare questa sua azione tanto energica è prima necessario che il *Co* sia assunto in notevole quantità dalla pianta o che quest'ultima abbia avuto il tempo di elaborare composti ostacolanti direttamente o indirettamente la cariocinesi del tessuto neoplastico.

Sul batterio il *Co* si è mostrato *praticamente innocuo*.

Chiudo con un'ultima osservazione relativa alla *percentuale* (in grammi) di *Co* e di *Hg* contenuta nelle soluzioni *M/30000* dei rispettivi metalli (v. tabella a pag. 495).

Il *Co* nelle sue soluzioni *M/30000* è contenuto in ragione del $0,002 \text{ ‰}$ circa, mentre il *Hg* vi è contenuto in ragione del 0.007 ‰ circa.

Il *Co* dunque, in concentrazione quasi *4 volte minore* del *Hg* ha dato effetti *nettamente deprimenti* sul tumore, mentre il *Hg*, in concentrazione pressochè *quadrupla*, ha dato una *notevole eccitazione* sullo sviluppo del tumore stesso.

Per contro il *Co* in soluzione *M/600* è stato appena leggermente deprimente sullo sviluppo del *B. tumefaciens* in coltura, mentre il *Hg*, in soluzione *M/50000* (circa *25 volte* più diluita) lo ha ben presto *devitalizzato*.

Queste constatazioni sembrano confermare che l'azione di questi metalli, nell'inibire o nell'esaltare lo sviluppo del neoplasma, si espliciti in maniera preponderante esaltando o comprimendo la *naturale resistenza* delle piantine di ricino all'infezione del *B. tumefaciens*.

TRATTAMENTO	PROVA I		PROVA II				PROVA III
	Semi in capsule con soluzioni M/1000; piantine nei bicchieri con soluz. metall. pressochè M/12500 contenute nella soluzione di Pfeffer.		Semi in capsule con soluzioni M/10000; piantine nei bicchieri con soluzioni metalliche pressochè M/12500 contenute nella soluzione di Pfeffer; per il Hg usato soluzione M/25000 circa.				Semi in capsule con soluzioni M/1000; piantine nei bicchieri con soluzioni metalliche pressochè M/12500 contenute nella soluzione di Pfeffer; per il Hg usato soluzione M/25000 circa.
	(cc. 120 per bicchiere ogni 4-5 giorni)		1ª Serie		2ª Serie		(cc. 100 per bicchiere ogni 4-5 giorni)
METALLI	Intensità di attacco in mm ³	Effetto in rapporto al controllo	Intensità di attacco in mm ³	Effetto in rapporto al controllo	Intensità di attacco in mm ³	Effetto in rapporto al controllo	Intensità di attacco in mm ³
Controllo	4-6	—	6-8	—	3-4	—	6-8
Co	0	— — — —	0	— — — —			2,5-4
Hg					4-5	+	5-7
Cu	6-7	+			4,5-5,5	++	5-7
Cd	7-9	+++			5,5-7	+++	5-7
Sr	4-6	uguale	10-11	++++			8-9
Ba	8-9 (1 sola piantina)	+++			5-6	++	8,5-9,5
Pb	6-7	+			5-6	++	8,5-9,5
Zn	dubbio	dubbio			5-6	++	8-9
K	4-6	uguale	11 (1 sola piantina)	++			9-10
Fe	3-5	—			3,5-4,5	uguale	9-10
Al	4-6	uguale	5-6	— —			6-8
Ce	3-5	—	11 (1 sola piantina)	++			9-10
U	4-6	uguale	10-11	++++			6-8
Zr	4-6	uguale	10-11	++++			8,5-9,5
Th	3-5	—	8-10	++			6-8
Ag	8-10	++++			4-5	+	5-7
Pd	6-7	+					8,5-9,5
Li	4-6	uguale					8,5-9,5
Ni							

TABELLA II.

PROVA VII		PROVA VIII			PROVA XIII		
1 ^a Serie		2 ^a Serie					
Semi in capsule con soluzione metall. M/1400; piantine in bicchieri con soluz. metall. M/10000, usate alternativamente con soluzione di Pfeffer.		Nessun trattamento in caps.; piantine in bicchieri con soluzioni metalliche M/10000, usate alternativamente con soluzione di Pfeffer.			1 ^o gruppo: Semi in capsule e piantine in bicchieri con soluzioni M/15000.		
(150 cc. per bicchiere ogni 4-5 giorni)		(125 cc. per bicchiere ogni 4-5 giorni)			(170 cc. per ogni bicchiere dei due gruppi, ogni 4-5 giorni)		
Effetto in rapporto al controllo	Intensità di attacco in gradi decresc.	Effetto in rapporto al controllo	Intensità di attacco in gradi decresc.	Effetto in rapporto al controllo	Diluizione della soluz. M	Intensità di attacco in mm ³	Effetto in rapporto al controllo
	II-III		III-IV			277	
— — — —	IV	—	0	— —	M/15000	65	— — — —
					M/30000	195	—
—	IV	—	0	— —			
—	II	uguale	II	+			
—	III	uguale	IV	uguale			
+	I	+	II	+	M/15000	334	+
					M/30000	267	uguale
++	I	+	I	++	M/15000	303	+
					M/30000	318	+
++	I	+	I	++	M/15000	339	+
					M/30000	228	—
+	I	+	I	++	M/15000	316	+
					M/30000	303	+
+++	II	uguale	I	++			
+++	I-IV	uguale	II	+			
uguale							
+++							
uguale							
++							
uguale							
—	IV	—	0-IV	—			
++	IV	—	II	+			
++							
	II	uguale	0	— —			

TABELLA III.

TRATTAMENTO	PROVA VII		PROVA VIII			PROVA X		
	Semi in capsula con soluzione M/5000. Piantine nei bicchieri con soluz. M/30000. (cc. 180 per bicchiere ogni 4-5 giorni)		1° gruppo: Semi in caps. con soluz. M/5000; piantine nei bicch. con soluz. M/10000. 2° gruppo: Semi in caps. con soluz. M/50000; piantine nei bicch. con soluz. M/100000. 3° gruppo: Semi in caps. con soluz. M/50000; piantine nei bicch. con soluz. M/20000. (cc. 120 per ogni bicchiere di ciascun gruppo ogni 4-5 giorni)			1° gruppo: Semi in caps. e piantine nei bicchieri con soluzione M/15000. 2° gruppo: Semi in caps. e piantine nei bicchieri con soluzione M/30000. 3° gruppo: Semi in caps. e piantine nei bicchieri con soluzione M/90000. (cc. 100 per ogni bicchiere di ciascun gruppo ogni 4-5 giorni)		
METALLI	Intensità di attacco in mm.	Effetto in rapporto al Controllo	Diluizione delle soluz. M usate	Intensità di attacco in mm.	Effetto in rapporto al Controllo	Diluizione delle soluz. M usate	Intensità di attacco in mm ³	Effetto in rapporto al Controllo
Controllo	8			6			639	
Co	5	— — —	M/5000			M/15000	105	— — — —
			M/50000 ×	5	—	M/30000	278	— — —
			M/50000	5	—	M/90000	467	— —
Hg	6,5 (1 sola piant.)	— —	M/5000			M/15000	312	— — —
			M/50000 ×	6	uguale	M/30000	701	+
			M/50000	7	+	M/90000	402	— —
Cu	6	— —	M/5000	5,5	—	M/15000	437	— —
			M/50000 ×	5,5	—	M/30000	360	— —
			M/50000	5,5	—	M/90000	408	— —
Cd			M/5000			M/15000	153	— — — —
			M/50000 ×	5	—	M/30000	441	— —
			M/50000	5,5	—	M/90000	797	+ +

Nota. - Nell'ultima finca di ogni prova, quella che sta sotto l'intestazione: "Effetto in rapporto al controllo", è segnata, con numero vario di + o di —, l'intensità dell'azione eccitante o deprimente che i vari metalli in soluzione hanno esercitato sullo sviluppo del tumore in rapporto ai controlli. Così: quanto è maggiore il numero dei segni — che si susseguono sulla stessa linea, tanto maggiore è stata la depressione esercitata da quel metallo a quella determinata diluizione; viceversa quanto maggiore è il numero dei segni +, tanto maggiore è stata l'eccitazione esercitata dal rispettivo metallo a quella determinata diluizione.

Ciò vale anche per la precedente e per la seguente tabella.

Prove fatte con ricini allevati in terra e poi *tagliati* e messi nelle rispettive soluzioni metalliche

556

PARASSITI VEGETALI

TRATTAMENTO	PROVA VI				PROVA IX				PROVA XI				PROVA XII			
	Diluzione delle soluz. M	Intensità di attacco in mm.	Effetto in rapporto al Controllo	(cc. 25 per provetta ogni 4-5 giorni)	Diluzione delle soluz. M	Intensità di attacco in mm. ³	Effetto in rapporto al Controllo	(cc. 60 per bicchiere ogni 4-5 giorni)	Diluzione delle soluz. M	Intensità di attacco in mm. ³	Effetto in rapporto al Controllo	(cc. 60 per bicchiere ogni 3-4 giorni)	Diluzione delle soluz. M	Intensità di attacco in mm. ³	Effetto in rapporto al Controllo	(cc. 60 per bicchiere ogni 4-5 giorni)
METALLI	1° gruppo: Piantine tenute in soluzione M/5000.	2° gruppo: Piantine tenute in soluzione M/50000.					1° gruppo: Piantine tenute in soluzione M/15000.	2° gruppo: Piantine tenute in soluzione M/30000.					1° gruppo: Piantine tenute in soluzione M/15000.	2° gruppo: Piantine tenute in soluzione M/30000.	3° gruppo: Piantine tenute in soluzione M/60000.	
Controllo		7,2	—	—		477	—			415	—			285	—	
Co	M/5000	3,7	—	—	M/15000	442	—		M/15000	299	—		M/15000	493	—	
	M/50000	7	uguale		M/30000	460	uguale		M/30000	222	—		M/30000	220	uguale	
Hg	M/5000	7	uguale		M/15000	592	+		M/15000	437	uguale		M/15000	398	+	
	M/50000	6,5	—		M/30000	592	+		M/30000	470	+		M/30000	345	+	
													M/60000	348	+	
Cu	M/5000	6	—	—	M/15000	440	—		M/15000	421	uguale		M/15000	342	+	
	M/50000	8	+		M/30000	456	uguale		M/30000	519	+		M/30000	341	+	
													M/60000	369	+	
Cd	M/5000	6	—	—	M/15000	414	—		M/15000	340	—		M/15000	294	+	
	M/50000	7,5	uguale		M/30000	607	+		M/30000	441	uguale		M/30000	252	uguale	
													M/60000	235	uguale	

RIVISTA

WILSON J. D. e RUNNELS H. A. — **Some effects of Bordeaux-mixture on transpiration.** (Alcuni effetti della poltiglia bordolese sulla traspirazione). (*Bull. of Ohio Stat.*, N. 165, 1933, pag. 147-151, con una figura).

Gli Autori hanno constatato che le irrorazioni con poltiglia bordolese eccitano la traspirazione, tanto che sieno fatte sulla pagina superiore quanto su ambedue le pagine delle foglie, di notte e di giorno. Ne deduce che l'azione si esercita specialmente sopra la traspirazione cuticolare.

L. M.

BOURIQUET G. — **Les maladies du caféier à Madagascar.** (Le malattie del caffè al Madagascar). (*L'agronomie coloniale*, XXIII, Paris, 1934, N. 193-196, 37 pagine, con 4 tavole).

ID. — **Le caféier d'Arabie à Madagascar, dans la région du lac Itasy, et l'*Hemilea vastatrix*.** (Il caffè d'Arabia al Madagascar, nella regione del lago Itasy, e l'*Hemilea vastatrix*) (col precedente, pag. 133-135, con una tavola).

La maggiore importanza è data alla ruggine vera, dovuta all'*Hemilea vastatrix* che riesce dannosa e mette in pericolo la

coltivazione, al Madagascar, del caffè d'Arabia, la varietà introdotta e preferita per altre ragioni dagli Europei. L'Autore fa la storia di questa malattia e del parassita che la produce, originario, secondo alcuni, dell'Africa centrale dove il suo ospite avrebbe acquistato, per lento adattamento, una certa immunità. Comunica i risultati di esperimenti di lotta eseguiti nel 1931 e 1932, dai quali appare che la malattia può essere vinta con tre a cinque irrorazioni a base di poltiglia bordolese o di altre miscele cupriche.

Le altre malattie di cui si parla, ma che sono meno dannose, sono la *maladie des yeux bruns*, dovuta a *Cercospora coffeicola*; l'antracnosi da *Gloeosporium coffeanum*; licheni; variegatura; cocciniglie; *Corticium salmonicolum* sui rami; marciume da *Armillaria mellea*; *Pseudococcus aonidum* sulle radici, e *P. lilacinus* insieme a *Polyporus coffeae* e *Rhizoctonia bataticola*; anguillule (*Heterodera radicum*?).

Viene segnalato un caso di probabile parassitismo di *Verticillium* su *Hemileia vastatrix*. L. M.

BRUNDZA K. — **Beiträge zur Kenntnis der Erysiphaceen Litauens.** (Contributo alla conoscenza delle Erisifacee della Lituania). (*Jahrb. d. landw. Akad. in Litauen*, 1934, pag. 107-197, con due tavole).

Sono elencate 54 specie appartenenti a 6 generi, viventi su 232 matrici.

Sono pure espone considerazioni generali sopra la biologia delle Erisifacee. L'Autore ha trovato il *Cicinnobolus Cesatii* su 26 piante ospiti e, mentre Sorauer afferma che esso attacca gli oidii solo quando è quasi finita la sporificazione, lo ha visto anche su oidii ancora giovani. L. M.

HIURA M. — **Observations and experiments on the mulberry rust caused by *Aecidium mori* Barclay.** (Osservazioni ed esperimenti sulla ruggine del gelso dovuta all'*Aecidium mori* Barclay). (*Japan. Journ. of Bot.*, V, 1931, pag. 253-272, con tre tavole).

Questo fungo si trova frequentemente sul *Morus alba* in Giappone. Non se ne conoscono le teleutospore, e presenta una generazione primaria ed una secondaria: in primavera attacca e deforma i nuovi germogli, e le ecidiospore che si sviluppano sopra questi infettano foglie, fusto e fiori fin che i loro tessuti sono teneri: le nuove ecidiospore infettano le gemme sulle quali ultime il fungo sverna.

L. M.

HUSZ B. — **Ueber die Zugehörigkeit von *Phellomyces sclerotiophorus* Frank und dessen Unterscheidung von *Spondilocladium atrovirens* Harz.** (Sulla appartenenza del *Phellomyces sclerotiophorus* Frank. e sulla sua distinzione dallo *Spondilocladium atrovirens* Harz.). (*Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. u. Pflanzenschutz*, XLIV, 1934, pag. 186-191, con tre figure).

Si parla delle macchie argentee delle patate che l'Harz attribuì allo *Spondilocladium atrovirens*, ed il Frank mise in relazione con un micelio sterile, *Phellomyces sclerotiophorus*. Mentre da alcuni si volle ritenere che questi due funghi fossero in relazione tra loro, l'Autore arriva a diversa conclusione e trova invece una relazione tra il *Phellomyces* ed il *Colletotrichum atramentarium*.

L. M.

STEINER H. — **Ein Beitrag zur Frage der Getreiderostbekämpfung auf kulturellemwege.** (Contributo allo studio della lotta contro le ruggini dei cereali coi metodi di coltura) (col precedente, pag. 348-354).

L'Autore rileva che la lotta contro le ruggini con mezzi chimici appare alle volte praticamente ed economicamente impossibile, e che quella biologica basata sulla selezione di varietà resistenti ha condotto alla conoscenza di razze diverse e diversamente virulenti del parassita. Esamina la possibilità di lotta con metodi culturali: ricorda che la *Puccinia triticensis*, la *P. dispersa* e la *P. glumarum* infettano l'ospite già in autunno e sopravvivono all'inverno in forma di micelio o di sori uredosporiferi nelle foglie, e discute della possibilità di impedire col tempo della semina, con concimazioni che affrettino lo sviluppo delle piantine, con lavori colturali, ecc. tali infezioni primarie autunnali. Conclude che la cosa non appare possibile.

L. M.

MEHRLICH F. P. — **Control of Phytophthora heart rot of pineapple plants.** (Cura del marciume del cuore delle piante di ananas, dovuto a *Phytophthora*). (*Phytopathology*, XXIV, Lancaster, 1934, pag. 173-196, con 4 figure).

Questa malattia colpisce la parte più giovane dei fusti e la base delle foglie centrali, estendendosi, nelle piante giovani, a tutte le altre foglie. Alle Hawaii è molto dannosa. È dovuta a tre specie di *Phytophthora* che possono trovarsi isolate o insieme: *Ph. cinnamomi*, *Ph. palmivora* (*Ph. meadii*) e *Ph. parasitica* (comprendente la *Ph. melongena*).

L'Autore ha seguito per due anni il diffondersi della malattia, e comunica che si può lottare contro di essa immergendo le piante in poltiglia bordolese 1-0,7-3.

L. M.

DAHL A. S. — **Snowmold of turf grasses as caused by *Fusarium nivale*.** (La muffa da neve delle Graminacee, dovuta a *Fusarium nivale*) (col precedente, pag. 197-214, con 6 figure).

Il frumento e parecchie Graminacee da prato (*Poa*, *Agrostis*, *Festuca*, *Hordeum*, *Secale*, ecc.) presentano durante l'inverno una muffa che si manifesta a chiazze nei campi dopo lo scioglimento delle nevi. Il fungo patogeno è il *Fusarium nivale* (*Calonectria graminicola*): esso attacca le piante attraverso gli stomi, si diffonde nei vani intercellulari e solo dopo il collasso dei tessuti infetti diventa intracellulare. Il suo estendersi è favorito dalla caduta della neve su un terreno non gelato, da freddo prolungato, da concimazioni organiche abbondanti.

L. M.

ZELLER S. M. e LUND W. T. — **Yellow rust of *Rubus*.** (La ruggine gialla dei lamponi) (col precedente, pag. 257-265, con una figura).

Continuando lo studio di questa malattia che il Zeller aveva attribuito al *Phragmidium imitans* (veggasi alla nota riassunta alla pagina 296 del precedente volume XVII di questa Rivista), gli Autori dimostrano che si tratta del medesimo parassita conosciuto in Europa col nome di *Phr. rubi-idaei*. Ne danno una descrizione più esatta e precisano le condizioni che ne favoriscono lo sviluppo, che sono quelle comuni agli altri *Phragmidium*. Indicano alcune varietà più resistenti, ed altre più o meno recessive.

L. M.

WALKER J. C. e MURPHY A. — **Onion-bulb decay caused by *Aspergillus alliaceus*.** (Alterazioni dei bulbi di cipolla dovute all'*Aspergillus alliaceus*) (col precedente pag. 289-291, con una figura).

L'*Aspergillus alliaceus* fu trovato sopra bulbi di aglio. L'Autore vide che può attaccare anche le cipolle. In confronto cogli altri funghi che crescono sopra tali matrici, è organismo di temperature alte: il suo optimum è infatti tra 28° e 36° C. È questa la ragione, forse, per la quale non è molto diffuso: nei magazzini ne può essere impedito lo sviluppo mantenendo la temperatura sotto 20° C.

L. M.

WOLF F. A., DIXON L. F., MC LEAN R. e DARKIS F. R. — **Downy mildew of tobacco.** (Peronospora del tabacco) (col precedente, pag. 337-363, con 8 figure).

La *Peronospora nicotianae*, comune in Australia, è comparsa e si è estesa in questi ultimi anni anche nella Florida-Georgia: può attaccare anche le piantine di pomodoro, di peperone e di melanzane.

Gli Autori ne hanno studiato le condizioni di sviluppo e di riproduzione.

L. M.

DRAYTON F. L. — **The gladiolus dry rot caused by *Sclerotinia gladioli* — Massey — n. comb.** (Il marciume secco dei gladioli dovuto alla *Sclerotinia gladioli* — Massey — n. sp.) (col precedente, pag. 397-404, con tre figure).

Questa malattia fu già descritta dal Massey che trovò nei bulbi colpiti uno sclerozio da lui descritto col nome di *Sclerotium gladioli*. L'Autore scoprì ora un meccanismo sessuale ed ot-

tenne dagli sclerozii delle fruttificazioni ascofore ascrivibili al genere *Sclerotinia*: ne fa dunque la specie *Scl. gladioli* e ne dà la diagnosi. (Veggasi anche la nota di Drayton alla pagina 228 del precedente volume di questa *Rivista*).

L. M.

MC LAUGHLIN A. M. — **A *Fusarium* disease of *Cereus schottii*.**

(Una malattia da *Fusarium* nel *Cereus schottii*) (col precedente, pag. 495-506, con tre figure).

Nel Messico questa pianta presenta un marciume nero che a volte prende la parte bassa del fusto e si estende a tutti i tessuti interni. Dalle piante ammalate l'Autore isolò un *Fusarium*, della sezione *F. elegans*, che differisce dal *F. oxysporum* per avere le spore più piccole con una forte percentuale a 4 e 5 setti: ne fa una varietà di detta specie. Con essa riuscì a riprodurre la malattia su piante sane inoculando sia il fungo, sia il filtrato delle sue colture in brodo.

L. M.

NEAL D. C. e WESTER R. E. — **An undescribed *Sclerotium* fungus prevalent in Northeast Texas.** (Uno sclerozio non ancora descritto, comune nel Texas nord-orientale) (col precedente, pag. 528-533, con 4 figure).

Nel settembre 1932, dopo il periodo delle piogge si è notata la presenza, sulle radici di molte piante deperite di cotone, di un fungo formante sclerozii, e causa di marciume di radici come il *Phymatotrichum omnivorum*.

L'Autore lo descrive come specie nuova col nome di *Ozonium texanum*: è un micelio sterile.

L. M.

YOUNG P. A. — **Stem canker of hollycock caused by *Sclerotinia sclerotiorum***. (Cancro del fusto di altea dovuto a *Sclerotinia sclerotiorum*) (col precedente, pag. 538-543, con due figure).

La malattia si è manifestata su *Althaea rosea* a Bozeman e Montana. Si presenta in forma di macchie chiare circondanti il fusto e lunghe da 5 a 45 centimetri. Il fungo che vi è consociato è la *Sclerotinia sclerotiorum* e può passare dall'altea al girasole e viceversa, riproducendo le medesime alterazioni.

L. M.

MONTEMARTINI L. — **Ustilaginee dell'Eritrea**. (*Boll. di studi ed informazioni del R. Giardino Coloniale di Palermo*, XIII, 1934, 3 pagine).

È descritta una specie nuova (*Tilletia Baldrati*) che attacca le infiorescenze di *Poa abyssinica*, e sono segnalate altre specie raccolte all'Asmara dal Prof. I. Baldrati.

L. M.

TANAKA S. — **Studies on black spot disease of the japanese pear, *Pirus serotina* Rehd.** (La malattia delle macchie nere sul pero giapponese, *Pirus serotina* Rehd.). (*Mem. Col. of Agric., Kyoto Imp. Univ.*, 1933, N. 28, 31 pagine con 2 tavole e 5 figure).

È malattia comune in Giappone e Corea, specialmente sopra alcune varietà, mentre altre sono resistenti. È dovuta all'*Alternaria kikuchiana*, fungo che può penetrare dalla cuticola o dagli stomi ed attacca frutti e foglie producendo su essi le caratteristiche macchie nere: la temperatura optimum per il suo accrescimento è a 28° C.

Coltivandolo in mezzo liquido, si forma in questo una sostanza tossica, termolabile, filtrabile attraverso filtro F. Chamberlin, non separabile a forza centrifuga, capace di riprodurre le macchie nere sui frutti.

L. M.

ALLEN T. C., PINCKARD J. A. e RIKER A. J. — **Frequent association of *Phytophthora melophthora*, with various stages in the life cycle of the apple maggot, *Rhagoletis pomonella*.** (Frequente associazione della *Phytophthora melophthora* con i differenti stadii di sviluppo della mosca delle mele, *Rhagoletis pomonella*). (*Phytopathology*, XXIV, Lancaster, 1934, pag. 228-238, con una tavola).

Gli Autori trovarono il *Phytophthora melophthora*, causa del marciume batterico delle mele mature nei magazzini, sempre associato a tutti gli stadii della *Rhagoletis*, tanto nelle larve che negli adulti. Si trova pure nell'ovopositore.

L. M.

BELLIO G. — **Le tavole dosimetriche nella fumigazione cianidrica degli agrumi.** (*Annali d. R. Ist. Sup. Agrario di Portici*, Ser. III, Vol. VI, 1933, pag. 154-252, con 5 figure e una tavola).

Rilevata l'importanza delle fumigazioni cianidriche nella lotta contro le cocciniglie, l'Autore fa la storia della loro introduzione e del loro svilupparsi negli Stati Uniti d'America, nella Spagna ed in Italia. Parla dei metodi seguiti in Italia, dà le ta-

vole dosimetriche del Commissariato Generale Anticoccidico, spiega i principii informativi della nuova tavola dosimetrica della pesata, tipica e la riporta.

L. M.

JANNONE G. — **Osservazioni ecologiche e biologiche sul *Dociostaurus maroccanus* Thunb., *Calliptanus italicus* L. e loro parassiti in provincia di Napoli.** (*Boll. d. Labor. di Zool. agraria di Portici*, XXVIII, 1934, pag. 73-151, con 15 figure).

Sono ricerche fatte nelle campagne di Napoli durante gli anni 1932-33, sulla vita e le abitudini degli adulti, delle larve e delle ninfe delle due specie tipicamente gregarie di che trattasi; sul loro regime dietetico e sui loro rapporti coi parassiti naturali. Contemporaneamente furono presi in considerazione *Dociostaurus* e *Calliptanus* con caratteri morfologici e biologici diversi, e ciò per vedere se sono fasi biologiche delle due specie in esame o se ne sono indipendenti: di queste sarà riferito altrove. I parassiti descritti sono quelli specifici e, in un capitolo a parte, quelli comuni.

Precede un lungo capitolo sulle caratteristiche geografiche ed ecologiche della zona nella quale vennero fatte le osservazioni.

L. M.

MALENOTTI E. — **Velocità d'azione di alcuni insetticidi invernali contro la *Diaspis leperii* Sign.** (*L'Italia agricola*, Roma, 1934, N. 6, pag. 437-441, con due figure).

Nella lotta contro la cocciniglia grigia così detta del pero (*Diaspis leperii*) si sapeva già che gli insetticidi invernali hanno un'azione non immediata, ma graduale. L'Autore ha sperimen-

tato diversi insetticidi in un pescheto infetto da tale cocciniglia, ed ha visto che se i trattamenti sono fatti ai primi di febbraio, occorre aspettare, per darne un giudizio, la fine di aprile. Il freddo ritarda l'azione degli insetticidi, ed i diversi insetticidi hanno in ogni modo una differente velocità di azione che si manifesta specialmente nel primo mese, salvo magari compensarsi più avanti. Il giudizio definitivo va dunque dato solo dopo l'ultimo esame. La massima rapidità si è avuta con un insetticida a base di olio minerale, la vittoria finale l'ebbe però uno a base di carbolineum.

L. M.

MONASTERO S. — **Studio sulla posizione sistematica dell'*Opius sculus* Monastero, endofago della mosca delle olive.** (*Atti d. R. Acc. d. Sc. Lettere e Belle Arti di Palermo*, XVIII, 1934, 22 pagine, con una tavola).

Sciogliendo una riserva fatta nel suo lavoro riassunto alla precedente pag. 69 di questa *Rivista*, l'Autore ha fatto un confronto accurato della specie *Opius* da lui trovata negli oliveti della Sicilia occidentale con *O. concolor* Szèpl. già studiato dal Prof. Silvestri e con altri *Opius* avuti dall'Africa settentrionale (Sfa, in Tunisia, e Tripoli). L'esame dettagliato di tutti i caratteri diagnostici, lo rafforzano nella convinzione che si tratti realmente di una specie nuova, da indicarsi, come fu già indicata, col nome di *Opius sculus* Mon.

L. M.

WILSON E. E. — **A bacterial canker of pear trees new to California.** (Un cancro batterico dei peri nuovo per la California), *Phytopathology*, 1934, pag. 544-587, con una tabella).

Si manifesta sui rami prima con sollevamenti e distacco del periderma il quale in seguito si ricostituisce e screpola.

L'Autore ne ha isolato un bacterio che non classifica: pensa non si debbano creare nuove specie basandosi sul semplice studio della malattia sopra un solo ospite.

L. M.

CATONI G. — **Nuovi metodi per verificare la morte dei tralci delle viti in seguito al congelamento e appunti sui danni del gelo alle viti nella Venezia Tridentina in seguito all'invernata 1928-1929.** (*Nuovi Annali dell'Agricoltura*, XIV, Roma, 1934, pag. 27-42, con 4 tavole e 7 figure).

All'uso di intaccare con un temperino la corteccia del tralcio per giudicare, dal colore del legno, se un tralcio sia vivo o morto, l'Autore propone sostituire altri metodi più sicuri:

prova del liquido fatto passare per pressione attraverso una porzione di tralcio, con liquido di Fehling o con anaftholo: se il tralcio fu realmente gelato si avrà la reazione degli zuccheri;

prova dell'ascesa di soluzioni colorate in porzioni di tralci che si fanno pescare ad un'estremità in esse: se il tralcio è morto per gelo, le soluzioni saliranno rapidamente in essi;

provare la resistenza opposta dai tralci alle muffe saprofite, spaccando i tralci stessi, bagnandoli con acqua tenente in sospensione spore di muffe (riesce bene il *Trichotecium roseum*) e ponendoli entro capsule Petri in termostato a 25°-30° C.: se i tralci furono veramente gelati, si copriranno rapidamente di muffe.

Con questi metodi l'Autore ha potuto vedere che nella Venezia Tridentina molti tralci ritenuti gelati effettivamente non lo erano: spesso la loro morte avvenne più tardi, in primavera, per essiccamento, e ciò quando era gelato profondamente il ter-

reno e le radici non potevano assorbirne l'acqua necessaria alle parti aeree della pianta.

Contro il gelo le viti possono essere difese piegandole a terra o coprendole: in tal caso l'epoca più propizia per liberarle si ha quando il terreno è sgelato ed è escluso il pericolo di ulteriori danni per freddo. Si tenga presente che la potatura autunnale fa anticipare la germogliazione e rende così maggiore il pericolo delle gelate primaverili.

L. M.

HAVELIK K. — **Das Absterben der Bäume, hauptsächlich der Weisstannen — *Abies pectinata* — und Rotbuchen — *Fagus silvatica* — nach Frösten.** (La morte per gelo degli alberi, e specialmente degli abeti e dei faggi). (*Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. u. Pflanzenschutz*, XLIV, 1934, pag. 255-362, con tre figure).

Gli effetti dei forti freddi del 1928-29 non si videro subito, ma solo ora possono essere interamente constatati.

I danni del gelo si manifestarono con formazione di spaccature e cancri, con disturbi nel rinnovamento delle foglie dovuti a necrosi di tessuti conduttori e di riserva, con formazione di scottature dovute al rapido riscaldarsi del lato dei tronchi colpito dal sole.

L'Autore descrive queste alterazioni tanto negli abeti che nei faggi, le essenze che maggiormente vennero danneggiate.

L. M.

BURNETT G. — **The longevity of the latent and veinbranding viruses of potato in dried plant tissue.** (Longevità dei virus latente e delle nervature delle patate nei tessuti secchi dell'ospite). (*Phytopathology*, XXIV, Lancaster, 1934, pag. 215-227).

Si hanno parecchie ricerche sulla durata e conservabilità dei virus in vitro, ma non sulla loro longevità nei tessuti secchi della pianta ospite. Dalle osservazioni dell'Autore fatte su migliaia di piante di tabacco e di pomodoro, è risultato che nelle condizioni di che trattasi (tessuti secchi), il virus latente, se solo, può essere ancora infettivo, dopo 286 giorni nel tabacco, 263 nella patata e 50 nel pomodoro. Il virus delle nervature dura invece solo 50 giorni nelle patate e nel tabacco e 17 nel pomodoro. Il virus latente poi, se è nelle foglie insieme a quello del mosaico del tabacco, dura rispettivamente giorni 352, 1251 e 618.

L. M.

WEIMER J. L. — **Studies on Alfalfa mosaic.** (Studii sul mosaico dell'alfalfa) (col precedente, pag. 239-247, con tre figure).

L'Autore richiama la sua nota riassunta alla pagina 177 del precedente volume XXI di questa *Rivista*, sopra questa virosi tipo mosaico della *Medicago sativa*. Qui ne dà una descrizione più dettagliata corredata di buone figure e dimostra che essa viene trasmessa dagli afidi dei piselli.

Accenna alla probabile esistenza di altro virus differente da questo.

L. M.

HENDERSON R. G. — **Occurrence of tobacco ring-spot-like viruses in sweet clover.** (Presenza di virosi simili alle macchie anulari del tabacco, sopra *Melilotus officinalis*) (col precedente, pag. 248-256, con 4 figure).

Si sapeva che le macchie anulari del tabacco si presentano più frequenti dove questa pianta è coltivata dopo o vicina al *Melilotus*. L'Autore ricorda ora i casi già segnalati da altri di macchie anulari anche su *Melilotus* e pensa che si tratta di una razza del virus del tabacco. Descrive una virosi della stessa pianta infettiva anche per il tabacco e le petunie, sulle quali produce una specie di clorosi.

L. M.

GRANT T. J. — **The host range and behavior of the ordinary tobacco-mosaic virus.** (Gli ospiti del virus del comune mosaico del tabacco) (col precedente, pag. 311-336, con tre figure).

Sono 29 le specie vegetali nelle quali potè essere trovato tale virus, appartenenti a 14 famiglie. La specie ospite non ha una influenza sensibile nella costanza della proprietà del virus (temperatura che lo rende inattivo, limite tollerabile di diluizione), ed esso non viene attenuato dal passaggio sopra diverse specie non della famiglia delle Solanacee; solo negli spinaci pare possa trovarsi in concentrazione debolissima e l'estratto di piante sane di spinacio agisce in modo deleterio sopra il virus ad alta concentrazione estratto da piante di tabacco.

In alcune piante non Solanacee furono visti i corpi intracellulari che sono associati al mosaico del tabacco.

L. M.

BURNETT G. — **Stunt a virosis of Delphinium.** (*Stunt*, virosi dei *Delphinium*) (col precedente, pag. 467-481, con 8 figure).

È una malattia che nello Stato di Washington si è diffusa sulle varietà ornamentali perenni e che si manifesta con nanismo dell'intera pianta e con maculatura, clorosi e rachitismo delle foglie.

Con metodi meccanici può venire trasmessa al tabacco, al pomodoro, alle zinnie, al *Solanum nigrum*, alle *Stellaria*, alla lattuga, al cocomero ecc.: l'Autore descrive anche i sintomi coi quali la malattia si manifesta sopra queste piante.

L. M.

V. TUBEUF — **Blattfleckenkrankheit des Götterbaumes *Ailanthus glandulosa* Desfont.** (Macchie fogliari dell'*Ailanthus glandulosa* Desfont). (*Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. u. Pflanzenschutz*, XLIV, 1934, pag. 309-316, con le figure).

Le foglie colpite presentano sulla pagina inferiore macchie irregolari verde scure, vescicolose, variamente raggruppate: più tardi alcune porzioni del lembo seccano e lasciano luogo a fori di forma irregolare. Non si conosce la causa dell'alterazione che probabilmente è dovuta alle condizioni anormali nelle quali viene a trovarsi questo albero nell'Europa centrale.

L. M.

BUNSCHOTEN G. E. — **Invloed van de voeding op de virulentie van Schimmels.** (Azione del mezzo nutritizio sopra la virulenza dei funghi). (*Proefschr. Rijks-Univ. Utrecht*, 1933, 70 pagine, con una tavola e 2 figure).

L'Autore ha tenuto in coltura, su diversi mezzi nutritizii, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Rhizoctonia solani*, ed ha poi cercato di infettare piantine di pomodori colla prima e piantine di *Brassica chinensis* colla seconda. Vide così che la *Sclerotinia* è più virulenta quando si è sviluppata su mezzo contenente solfato d'ammonio, mentre lo è meno in presenza di peptone. Inoltre in presenza di solfato d'ammonio la virulenza decresce quando come sorgente di idrato di carbonio si adopera cellulosa, gomma arabica, amido.

La *Rhizoctonia* non è molto sensibile ai cambiamenti.

Può avere importanza l'età della coltura, e ciò a causa dell'accumularsi in essa di prodotti tossici.

L. M.

HÜTTIG W. — **Ueber den Einfluss der Temperatur auf die Keimung und Geschlechterverteilung bei Brandpilzen.** (Sopra l'azione della temperatura sulla germinazione e la distribuzione dei sessi nelle Ustilaginee). (*Zeitschr. f. Bot.*, XXIV, 1931, pag. 529-577, con 26 figure).

L'Autore ha studiato il comportarsi dei nuclei nel promicelio di *Ustilago avenae*, *U. hordei* e *U. nuda* f. *tritici*. Il nucleo aploide delle prime due specie ha due cromosomi.

La temperatura ha una azione sul tipo di germinazione che è dunque da considerarsi come modificazione: esercita poi una azione sopra la distribuzione dei sessi.

L. M.

SAVULESCU TR. — **Die Deeeinflussung der spezifischen Widerstandsfähigkeit und Empfindlichkeit des Weizens gegen Rost durch die Wirkung der äusseren Faktoren.** (L'azione degli agenti esterni sopra la resistenza e la recettività specifica del frumento alla ruggine). (*Zeitschr. f. Pflanzenbranh. u. Pflanzenschutz*, XLIV, 1934, pag. 257-309, con 33 figure).

Lo sviluppo delle ruggini dipende da una parte dalla recettività o resistenza delle diverse varietà di frumento, dall'altra dalla differente virulenza delle razze del parassita. Queste proprietà possono però variare colle condizioni ambienti, le quali danno la *predisposizione* (Sorauer) o semplicemente la *disposizione* (Gäumann) della pianta ad ammalarsi,

Le osservazioni fatte in proposito dall'Autore si riferiscono alla reazione ed alle proprietà fisiche del terreno, alla temperatura ed all'umidità. La temperatura da sè sola non ha influenza, ma coll'umidità costituisce il cosiddetto fattore termoidrico che ha molta importanza.

L. M.

SHANDS H. L. — **Temperature studies on stripe of barley** (Studii sulla temperatura nei riguardi del male della striscia dell'orzo). (*Phytopathology*, Lancaster, XXIV, 1934, pagine 364-383, con due figure).

È la malattia dovuta all'*Helminthosporium gramineum*. Questo fungo cresce in coltura a temperature tra 8° e 32° C. con un optimum a 25°. Quando le piantine sono infette, un rapido abbassamento di temperatura dal limite superiore a quello inferiore affretta la comparsa del male; un elevarsi rapido della temperatura la ritarda.

L. M.

BURGERT I. A. — **Some factors influencing germination of spores of *Phyllosticta solitaria*.** (Alcuni fattori che esercitano un'azione sopra la germinazione delle spore di *Phyllosticta solitaria*) (col precedente, pag. 384-396).

In acqua distillata le spore di questo parassita dei meli hanno una temperatura minima di germinazione a 5° C, massima a 39°, ottima a 23°; ciò tanto che provengano da coltura, quanto sieno state prese direttamente dai cancri, in quest'ultimo caso però spesso si presentano immature. Le spore ottenute in coltura germinano meglio quando sono vecchie di dieci a quindici giorni, presentano dunque un breve intervallo di tempo tra la maturità morfologica e la fisiologica. Un frammento di corteccia messo nella goccia d'acqua eccita la germinazione, specialmente se è corteccia di melo. L'arancio invece la impedisce.

L. M.

KUNKEL L. O. — **Studies on acquired immunity with tobacco and aucuba mosaics.** (Sopra l'immunità acquisita nei mosaici del tabacco e dell'aucuba) (col precedente, pag. 437-466, con 7 figure).

Il mosaico-tabacco ed il mosaico-aucuba si presentano con sintomi diversi nella *Nicotiana sylvestris*. L'autore riferisce sopra casi di inoculazione di virus attenuati che portano ad un'immunità acquisita contro i virus normali.

Ha raccolto molta letteratura in argomento, tutta riguardante le malattie da virus: non accenna agli studii fatti in Italia, specialmente da Carbone ed Arnaudi, sopra l'immunità acquisita nel caso di malattie parassitarie.

L. M.

SIBILIA C. — **Le ricerche sulla specializzazione delle ruggini del grano in Italia.** (*L' Italia agricola*. Roma, 1934, N. 6, pag. 451-457; con 8 figure).

Richiamate brevemente le più recenti osservazioni sopra l'argomento, l'Autore dà notizia di quanto si è disposto presso la Stazione di Patologia Vegetale di Roma per lo studio in parola. Fin' ora si è identificato il biotipo XV della *Puccinia triticina* ed è stato posto in osservazione materiale della stessa specie di 20 provenienze diverse.

L'Autore pensa che in Italia forse la questione della lotta contro le ruggini potrà essere semplificata con la creazione di varietà resistenti ai varii biotipi di *P. glumarum* e *P. triticina*, e nello stesso tempo precoci sì da sfuggire agli attacchi di *P. graminis*. Il *Mentana*, il *Damiano* e il *Villa Glori* sono fortemente colpiti dalle prime due.

L. M.

EVANS R. I. — **Cytological studies on the parasitic relationship of *Urocystis cepulae* to the onion.** (Studii citologici sopra i rapporti parassitarii dell' *Urocystis cepulae* colla cipolla). (*Amer. Journ. of Bot.*, XX, 1933, pag. 255-268, in due tavole).

L'Autore ha cercato di vedere il modo esatto di penetrazione del parassita nella pianta giovane e recettiva, e gli eventuali cambiamenti citologici dell'ospite stesso o del parassita.

Vide che la penetrazione ha luogo attraverso la cuticola, tanto per pressione meccanica che per azione enzimatica, senza che però si formino dischi adesivi. Le cellule epidermiche e subepidermiche invase non presentano cambiamenti di forma

nel nucleo. Quando col progredire del suo sviluppo la pianta è diventata quasi immune, le ultime ife penetrate in essa si contraggono e presentano fenomeni di degenerazione.

L. M.

SYLWESTER E. P. e COUNTRYMAN M. C. — **A comparative histological study of crowgall and wound callus on apple.** (Studio istologico comparato dei *crowngall* e del callo di cicatrizzazione nei meli) (col precedente, pag. 328-340, con due tavole e 7 figure).

Il confronto è fatto tra tumori patogeni e quelli non patogeni che sono dati dal callo di cicatrizzazione nella regione dell'innesto.

Ambedue derivano da proliferazione di tessuti esterni al cilindro centrale, e ambedue presentano specie di isolotti meristematici che producono del parenchima stratificato. Le reazioni microchimiche della cellulosa, della pectina, della lignina e della gomma sono eguali.

I tumori patogeni oltre che per la presenza dello *Pseudomonas tumefaciens* negli spazi intercellulari degli strati esterni, si distinguono per la presenza alla loro superficie di cellule scure e poligonali diverse dal periderma quasi normale che copre i tumori non patogeni.

L. M.

LA RUE C. D. — **Intumescences on poplar leaves. I, Structure and development.** (Intumescenze sopra le foglie di pioppo. I, Struttura e sviluppo). (*Amer. Journ. of Bot.*, XX, 1933, pag. 1-17, con 9 figure).

ID. — **II, Physiological considerations.** (Considerazioni fisiologiche) (col precedente, pag. 159-175).

Dopo avere accennato alla formazione di intumescenze fogliari sopra altre specie, l'Autore descrive il fenomeno in *Populus grandidentata* e *P. tremuloides*. Nelle foglie di queste specie le intumescenze si formano a qualunque età, salvo quando sono giovanissime, o quando si approssimano alla caduta: basta tenerle tre giorni in camera umida, oppure basta che si soprappongano in modo da trovarsi all'umido. Non si formano cellule nuove, ma si ha solo ipertrofia di cellule esistenti, tanto sulla pagina superiore che sulla inferiore.

Non si possono provocare nè con iniezione di acqua nelle foglie, nè con sommersione, nè con bagni ripetuti, nè tenendole in camera chiusa ma asciutta: si hanno solamente in camera umida, il che fa pensare che sieno certi prodotti di incompleta ossidazione quelli che, non mancando l'acqua, eccitano le cellule ad un ulteriore accrescimento.

L. M.

ZWEIGELT F. — **Blattlausgallen, histogenetische und biologische Studien an *Tetraneura* — und *Schizoneura* — gallen, die Blattlausgallen im Dienste prinzipieller Gallenforschung.** (Galle di afidi. Studii istogenetici e biologici sulle galle di *Tetraneura* e *Schizoneura*, con considerazioni generali sopra simili galle). (*Beih. z. Zeitrchr. f. angew. Entom.*, XI, 1931, 706 pagine, con 5 tavole e 155 figure).

Sono studiate la *Tetraneura ulmi* e la *Schizoneura ulmi* e le galle da esse formate sopra le foglie di alcune specie di *Ulmus*.

L. M.

NOTE PRATICHE

Dal *Monitore internazionale per la protezione delle piante*, VIII, Roma, 1934.

N. 6. — Dopo le consuete notizie sui voli di cavallette, si comunica: secondo il direttore gen. dell'agricoltura a Madrid, l'*Aspidiotus perniciosus* non è stato segnalato in Spagna;

secondo J. G. A. Cardoso il cancro degli agrumi da *Phytophthora citri* non è ancora stato osservato a Mozambico, mentre vi vennero segnalati altre malattie ed altri parassiti.

l. m.

Dal *Boll. d. R. Osserv. di Fitopatologia di Torino*, 1934.

N. 3. — G. Della Beffa inizia la descrizione, a scopo di propaganda, dei microlepidotteri italiani.

Si dà notizia delle principali malattie di piante coltivate che si presentarono nella primavera in Piemonte.

Contro il *mal bianco* dei meli, degli albicocchi e dei peschi, oltre le solforazioni si consigliano irrorazioni con polisolfuri al 2 p. 100.

l. m.

Da *La Costa azzurra*, Sanremo, 1934.

N. 6. — A Bordighera e dintorni vengono segnalati deperimenti di rose innestate dovute a corrosioni operate dal *Corebus rubi* nella regione dell'innesto e seguite da formazione anormale di tessuti di cicatrizzazione. Per combattere il corebo si consiglia tagliare tutti i roveti e le

siepi di rose selvatiche o abbandonate, bruciando tutto sul posto in modo da distruggere gli insetti che vi si annidano. Si consiglia pure fare trattamenti alle rose coltivate, in giugno-luglio, con poltiglia cupro-calceica addizionata col mezzo per cento di arseniato di piombo e con 150-200 gr. per ettolitro di solfato di nicotina.

l. m.

Da *L' Olivicoltore*, Roma, 1934.

N. 6. — Si dà notizia di una Conferenza tenuta nello scorso marzo ad Atene per la lotta contro la mosca delle olive. Tale iniziativa fu presa perchè l'anno scorso malgrado gli eseguiti trattamenti questo parassita fu causa, anche in Grecia, di danni assai gravi: il che è da ritenersi dovuto alle condizioni meteorologiche favorevoli alla moltiplicazione del *Dacus* e contrarie ad una buona distribuzione del dachicida. Alla Conferenza intervennero le Camere di agricoltura e le Casse di previdenza per l'olivo (sarebbero come i nostri consorzi). Si è riconosciuto che il metodo di lotta consistente in tre a cinque irrorazioni diminuisce sensibilmente i danni, purchè le condizioni meteorologiche non sieno sfavorevoli. Si è pure riconosciuta la necessità che le Casse di previdenza (i Consorzi) provvedano esse alla organizzazione delle squadre ed a tutti i lavori di difesa, e non si limitino a procurare ai proprietari l'insetticida adatto, lasciando ad essi la cura di applicarlo. Si sono fissati le proprietà della melassa e dell'arseniato di sodio che possano garantire dell'efficacia dell'insetticida, e si è insistito sulla necessità che la lotta sia diretta da tecnici specializzati e che anche la parte amministrativa-contabile sia controllata da appositi funzionari.

Vengono segnalati a Roma e ad Alghero danni provenienti dalla tignola dell'olivo (*Prays oleaellus*) le cui larve di prima generazione a Roma si trovano sulle foglie a corroderle, e ad Alghero, in seconda generazione hanno già sciupato le infiorescenze. Si consigliano irrorazioni a base di arseniato di piombo all'uno per 100 se in pasta e al mezzo per 100 se in polvere, da farsi a fine inverno sulle foglie contro la prima generazione, e poco dopo sui fiori contro la seconda. Sarà pure utile dopo la fioritura una polverizzazione con arseniato di calcio.

l. m.

Da *L' Agricoltura piacentina*, 1933.

N. 11. — Per le tignole dell' uva si raccomanda ai viticoltori di mettersi d'accordo per fare la lotta più estesamente possibile, cominciando in inverno collo scortecciare i pali ed i vecchi ceppi sui quali spesso si trovano i bozzoletti degli insetti. Bisogna poi far seguire, in primavera, il trattamento più accurato contro la prima generazione, da eseguirsi (di preferenza con insetticidi polverulenti, quali il meritolo o l'abruchite) due o tre giorni dopo che si è notato nel vigneto, il maggior volo di farfalline. Il trattamento contro la seconda generazione dovrà essere fatto verso la metà di luglio, anch' esso dopo che si saranno viste le farfalline.

l. m.

Da *Il Popolo di Sicilia*, Catania, 1934.

N. 200. — P. Mauro attribuisce il diffondersi del *mal secco* dei limoni all'uso delle concimazioni troppo azotate che favorendo la formazione di tessuti iperplastici ed acquosi, predispongono le piante agli attacchi del *Deuterophoma tracheipila*. Consiglia somministrare alle piante ancora sane concimazioni chimiche complete nei tre elementi indispensabili alla nutrizione normale delle piante (azoto, fosforo e potassio), non abbondare in irrigazioni, fare rimonde e non potature, abolire negli agrumeti gli orti ed i lavori profondi.

l. m.

Da *L' Agricoltore agrigentino*, 1934.

N. 6. — E. Antogiovanni segnala la *Epilachna chrysomelina*, coccinella che si nutre, allo stato larvale e da adulto, delle foglie di diverse Cucurbitacee (poponi, zucche, cocomeri) e può essere causa di danni anche gravi. Le foglie attaccate si presentano bucherellate e corrose. La difesa è possibile o collo schiacciamento delle ova deposte sulla pagina inferiore delle foglie, o colla raccolta diretta delle larve e degli adulti. Si consiglia pure estirpare e distruggere sul posto le piante subito dopo la raccolta, e distruggere le Cucurbitacee spontanee. Dove vi sia la convenienza economica, saranno utili anche le irrorazioni con arseniato di piombo al 0,5-1 p. 100.

G. Picone richiama l'attenzione degli olivicoltori sopra il diffondersi della tignola dell'olivo (*Prays olaellus*) in alcune località della provincia di Agrigento. Consiglia irrorare le piante, in maggio-giugno, all'epoca della fioritura, con una sospensione di arseniato di piombo colloidale al 0,5-1 p. 100. Sarebbe pure utile cercare prima di raccogliere le foglie che contengono le larve di prima germinazione, e bruciarle.

l. m.

Da *La Propaganda agricola*. Bari, 1934.

N. 10. — P. Indolfi dà notizia di un esperimento fatto contro le grillotalpe con esca avvelenata, in terreno di Altamura coltivato ad ortaglia. Siccome si era in luglio e il terreno era molto arido, si adottò il metodo delle buchette, consistente nello scavo di fossette profonde 30 cm. e distanti m. 1,50 l'una dall'altra, negli interfilari delle melanzane e dei peperoni: dette fossette furono prima inaffiate internamente e poi riempite di erbe e paglie pure bagnate e mescolate all'esca avvelenata (grano-turco trattato o con derivati del fluorosilicato di bario, o con arseniato di calcio). Distribuito il veleno la sera, dopo due giorni si trovarono fino 85 grillotalpe morte in una sola buchetta. Il fluorosilicato (in commercio chiamato *balfor*) ha dato risultati migliori.

l. m.

Dall' *American Journal of Botany*, 1934.

N. 1. — E. B. Mains distingue due razze di *Puccinia iridis* (ruggine degli Iris) che sono specializzate su diverse specie di *Iris*.

B. Johnson ha ottenuto con correnti elettriche forti concentrazioni del virus del mosaico del tabacco.

N. 3. — G. O. Ocfemia ha dimostrato che la malattia detta *Fiji* della canna da zucchero può essere trasmessa da un insetto, la *Perkinsiella vastatrix*. Il periodo di incubazione della malattia nella canna da zucchero varia da 24 a 86 giorni.

N. 5. — E. von Kessler segnala l'estendersi del marciume radicale, dovuto a *Nematosporangium rizophthoron*, nelle coltivazioni di ananas alle isole Hawaii, e presenta uno studio preliminare sopra la resistenza di alcune varietà.

l. m.

Da *Beitr. z. Biologie d. Pflanzen*, 1933.

N. 3. — J. Günnewig ha isolato e determinato come *Chaetonium kunzeanum* il fungo dei semi di *Lolium temulentum* e *L. multiflorum*. Tentativi di reinfezione hanno dato risultati negativi.

l. m.

Dalla *Zeitschr. f. Pfluenkrankh. u. Pflanzenschutz*, XLIV, 1934.

N. 4 e 5 -- W. Speyer descrive danni prodotti dalle cimici e dai coccinellidi ai peri e ai meli.

E. Elssmann combatte la septoriosi dei sedani (*Septoria apii* e Br. et Cav.) con ripetute irrorazioni di poltiglie rameiche all'uno per cento.

A. Körting dà uno studio della biologia dell' *Oscinis frit*.

H. Lehmann parla dei danni prodotti all'erba medica da larve minatrici delle foglie (*Agromyza frontella* e *A. nana*), da insetti galligeni (*Contarinia medicaginis*, *Asphondylia Miki*, *Dasyneura ignovata* e *Jaapinella medicaginis*).

N. 7. — v. Tubeuf invoca una lotta estiva ed invernale contro i passeri a difesa dei raccolti di frumento. Crede che in questo ultimo decennio tali uccelli sieno in diminuzione perchè a causa del diffondersi delle automobili sono meno frequenti sugli stradali i cavalli, nel cui sterco essi trovano il loro maggior nutrimento invernale.

l. m.

Da *Der Tropenpflanzer*. Berlin, 1934.

N. 5. — J. Wille descrive l' *Anacentricus saccharidis*, coleottero dannoso alla canna da zucchero nel Perù.

K. Ludwigs descrive scopazzi del cacao, dovuti alla *Taphrina* (= *Exoascus*) *Bussei*.

l. m.

Da *Phytopathology*. Lancaster, 1934.

N. 3. — P. A. Young rileva che certi funghi (per es. *Rhizopus nigricans*) hanno per gli olii di petrolio la stessa tolleranza delle foglie dei meli: possono quindi essere adoperati per vedere se certe emulsioni sono, o meno, dannose alle foglie.

O. C. Magistad e J. M. Oliveira parlano dei danni che può arrecare l'*Heterodera marioni* alle coltivazioni di ananas: i fertilizzanti non vengono assorbiti ed utilizzati dalle piante il cui sistema radicale è infetto.

W. N. Ezekiel e J. J. Taubenhaus distinguono, pel cotone, un avvizzimento comune nel Texas e dovuto a *Fusarium vasinfectum* ed un avvizzimento, diverso da questo, comune in Waxahachie. Indicano varietà resistenti.

C. G. Small indica un metodo per la determinazione quantitativa dello zolfo nelle foglie.

C. T. Rumbold descrive una specie nuova di *Graphium* (*Gr. rubrum*) causa di alterazioni e di macchie nei legni di querce, pioppi, liquidambar e pini.

J. E. Machacek indica un metodo per ottenere una coltura di *Pythium* libera da batterii.

Allison C. C. segnala un attacco di mal bianco del lino nel Minnesota. L'oidio fu descritto da Skorié col nome di *O. lini*: la forma ascofora è l'*Erysiphe cichoracearum*.

C. O. Smith comunica che inoculando il *Bacterium savastanoi* nei rami di *Olea chrysophylla* (un olivo introdotto negli Stati Uniti dall'Africa orientale) si ottengono dei tumori più piccoli e di forma un po' diversa da quelli dell'*Olea europea*.

L. C. Cochran conferma con esperimenti d'inoculazione incrociata, che *Septoria petroselinii* e *S. apii-graveolentis* sono due forme distinte con parassitismo specifico la prima sul prezzemolo, la seconda sul sedano.

N. 4. — E. B. Mains distingue almeno due razze di *Puccinia sorghi* dalle specie di *Oxalis* sulle quali esse sviluppano gli ecidii. Conferma che è una specie autosterile e che gli ecidii non si sviluppano dall'infezione di una sola basidiospora.

M. R. Harris descrive un avvizzimento dei bocci di leone di serra dovuto ad una *Phytophthora* affine ma non identica alla *Ph. cactorum*.

N. 5. — N. M. Bewer ha visto che la luce esercita un'azione sul tipo di infezione e periodo di incubazione della *Puccinia glutinaria* sul frumento.

R. W. Goss ha constatato che i terreni del Nebraska sono largamente infetti da scabbia e *Fusarium* (*F. eumartii* e *F. oxysporum*, causa di avvizzimento e di marciume terminale del fusto) delle patate, e ha trovato che l'infezione è in dipendenza anche dalle coltivazioni precedenti.

W. Crosier descrive casi di germinazione anormale di frumento, in seguito a polverizzazioni anticrittogamiche.

E. E. Wilson descrive variazioni in *Pseudomonas cerasi* (causa del cancro delle ciliegie) in coltura su mezzi solidi.

C. J. King, C. Hope e E. D. Eaton rilevano la presenza del *Phymatotrichum omnivorum* (causa del marciume radicale del cotone) sulle radici di piante di regioni quasi desertiche.

D. Reddick parla di varietà di patate del Messico resistenti alla peronospora.

L. E. Miles riassume una comunicazione di J. A. Sarejanni secondo la quale venne segnalato anche in Grecia l'avvizzimento del cotone dovuto a *Verticillium albo-atrum*, come negli Stati Uniti. Pensa che questo parassita, che non è trasportabile coi semi, esistesse in Grecia su altre piante e che le varietà di cotone indigene fossero ad esso resistenti, mentre ne rimasero attaccate le varietà importate dall'America.

l. m.

Dalla *Revista agronómica*, Lisbona 1933.

N. 1-2. — J. L. Ferreira dice che l'escara o scabbia delle patate può essere dovuta a cause differenti: semplice attrito contro corpi solidi nel terreno, azione di qualche composto corrodente, o effetto di funghi o batterii o larve di insetti parassiti. Descrive casi di scabbia dovuti all'*Hypochnus solani* o *Corticium vagum* var. *solani*. Distingue anche differenti razze di *Rhizoctonia solani* e contro questa consiglia l'uso di tuberi da semina perfettamente immuni, e trattamenti del terreno con composti di mercurio.

l. m.

Dal *Jahrbücher f. wiss. Botanik*, 1933.

Pag. 483. — A. Wieler ha visto che il biossido di zolfo danneggia l'assimilazione delle piante anche se nella diluizione di 1 a 500.000: può dare danni acuti, nei quali si ha la morte delle cellule, e danni cronici nei quali la funzione assimilatrice è appena disturbata.

l. m.

Dal *Bollettino d. R. Ufficio per i servizi agrarii della Tripolitania*, III. 1934.

N. 6. — V. Di Cairano raccomanda la distruzione delle radici di barbabietola che sieno trovate infette da anguillule, lavorando poi bene il terreno nel quale esse erano e facendo seguire una coltura a grano o un anno di riposo.

N. 7. — Lo stesso Di Cairano suggerisce aggiungere all'acqua di crusca adoperata per attirare la mosca delle frutta 2 grammi di arsenito di sodio per ogni litro.

l. m.

Da *Il Giardino fiorito*, Firenze 1934.

N. 9. — Sono segnalati da Roma attacchi di *Erysiphe polygoni* a piselli odorosi e si consigliano solforazioni

Vengono segnalati attacchi di *Eriophyes genitae* sopra *Cytisus scoparius* var. *Andreanus* (ginestra andreana) coltivato. Si devono tagliare e bruciare i rametti infetti.

l. m.

